



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FÁRMACOS COM ATIVIDADE AUTO-REGENERADORA DO ESMALTE DENTÁRIO

Trabalho submetido por
Pedro Manuel da Silva Quintas
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Carla Ascenso

outubro de 2014

DEDICATÓRIA

Aos meus pais

Às minhas irmãs

Aos meus avós

AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda a minha família especialmente aos meus pais, às minhas irmãs e aos meus avós sem vocês não valia a pena o esforço e a dedicação para chegar aqui. Obrigado por terem acreditado que seria sempre possível. Obrigado Pai, obrigado Mãe por tudo o que me possibilitaram ao longo destes anos. Obrigada Susana e Patrícia pelas boleias, sem elas não seria capaz de chegar até aqui.

Obrigada aos meus amigos Airton Davis, David Batista, Henrique Martins, João Figueiredo, João Santos, Mário Moreira, Mélvyn Gracias e Nuno Cardoso pela companhia ao longo deste percurso, sem eles a história não se realizava.

Obrigada a todas as outras pessoas que partilharam comigo todos estes anos de vida académica e os tornaram inesquecíveis.

Obrigado à Prof. Doutora Carla Ascenso pelo incansável apoio para a realização desta monografia.

Obrigado a todos os professores que contribuíram para a minha formação ao longo de toda a minha vida de estudante.

Obrigado Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Muito Obrigada

RESUMO

A erosão dentária é um problema de saúde pública, cujo tratamento ainda não possui um fármaco de eleição. O esmalte é constituído por hidroxiapatite (um complexo de fosfato e cálcio) que em meio ácido é dissociado. A componente mais importante presente na cavidade oral para a proteção e remineralização do esmalte é a saliva. A saliva apresenta capacidade tampão, permitindo a manutenção do pH e de minerais no ambiente oral. O fluor é o composto mais utilizado para combater a desmineralização, no entanto está associado ao risco de fluorose. Assim, o desafio nesta área consiste em encontrar um substituto do fluor, ou encontrar/desenvolver um fármaco contendo este elemento mas que apresente menor toxicidade. Foram já estudados diversos fármacos, quer de origem natural, quer sintética, e alguns mostraram elevado potencial de remineralização. Exemplos são o vidro bioativo, a teobromina, a CPP-ACP, o xilitol, a goma arábica, o Chitosan, entre outros.

Palavras chave: erosão dentária, remineralização, fluor, vidro bioativo, teobromina, xilitol, CPP-ACP, goma arábica.

ABSTRACT

Dental erosion is a public health problem that does not have an ideal drug for its treatment. Enamel is formed by crystals of hidroxiapatite (a calcium and phosphate containing complex) that breaks down in the presence of an acid environment. Saliva is the most important component for the protection and remineralization of enamel. This fluid has a buffering effect, allowing the maintenance of pH and minerals in the oral environment. Fluoride is the most used compound in cases of desmineralization but it has toxic effects, like fluorosis. Therefore, the main goal in this field of study is to find a substitute of fluoride or even a drug capable of being associated with it, reducing the risk of this side effect. Different drugs, both of natural and synthetic origin, have already been analyzed and several have shown marked remineralization potential. Examples are bioactive glass, theobromine, CPP-ACP, xylitol, gum arabic, chitosan, among others.

Key Words: dental erosion, remineralization, fluoride, bioactive glass, theobromine, xylitol, CPP-ACP, gum arabic, chitosan.

ÍNDICE GERAL

Dedicatória	3
Agradecimentos	4
Resumo	5
Abstract.....	6
Índice geral	7
Índice de figuras	8
Índice de tabelas	10
Lista de abreviaturas e símbolos.....	11
1. Introdução.....	13
1.1 Esmalte	14
1.2 Erosão Dentária	16
1.3 Cáries Dentária	17
1.4 Placa Bacteriana	18
1.5 Remineralização	19
1.6 Saliva	20
2. Desenvolvimento	22
2.1 Sistema CPP-ACP	22
2.2 Nanohidroxiapatite	30
2.3 Vidro bioativo	32
2.4 Agentes naturais	36
2.5 Fluor	44
2.6 Produtos comercializados.....	47
3. Conclusão	49
4. Bibliografia.....	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do dente e respectivos componentes	14
Figura 2 - Precipitação do fosfato de cálcio e estrutura do ortofosfato (Pi) e do pirofosfato (PPi)	15
Figura 3 - Erosão dentaria provocada pelo excesso de H ⁺ na cavidade oral	17
Figura 4 - <i>White spot lesions</i>	18
Figura 5 - Biofilme e bioadesão da placa bacteriana ao esmalte dentário.....	19
Figura 6 - Imagem eletrônica microscópica do sistema CPP-ACP ligado a bactérias da placa bacteriana.....	24
Figura 7 - Inibição da adesão bacteriana através do CPP-ACP.....	25
Figura 8 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras saudáveis.....	26
Figura 9 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras erodidas.....	26
Figura 10 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras remineralizadas	26
Figura 11 - Análise da energia dispersiva de raio-x dos três grupos de amostras.....	27
Figura 12 - Dureza e módulo de elasticidade dos três grupos de amostras	28
Figura 13 - Volume de desgaste por nanoriscos nos três grupos de amostra.....	28
Figura 14 - Imagem microscópio eletrônico do grupo controlo, após exposição à coca-cola e após exposição à pasta contendo CPP-ACP do esmalte lesado	29
Figura 15 - Gráfico da percentagem de remineralização (SMHR) vs dias de exposição	31
Figura 16 - Imagens de microscopia eletrónica.....	32
Figura 17 - Imagem microscopia eletrónica dos diversos tipos de tratamento	34
Figura 18 - Tomografia do dente em relação a duas concentrações de Chitosan.....	37
Figura 19 - Microradiografia do esmalte desmineralizado e após remineralização	39
Figura 20 - Gráfico da remineralização e gráfico da deposição de cálcio.....	40
Figura 21 - Percentagem de mineral versus profundidade da lesão	43

Figura 22 – Verniz DuraphatTM	47
Figura 23 - Sensodyne Repair & Protect.	48
Figura 24 - Ciclo de desmineralização/remineralização.....	49

INDICE DE TABELAS

Tabela 1- Diversos graus de erosão dentária	16
Tabela 2 - Componentes da saliva e suas principais funções	20
Tabela 3 - Composição dos diversos compostos presentes em diferentes tipos de biovidro.....	33
Tabela 4 - Rácio Ca/P dos diferentes esmaltes analisados	35
Tabela 5 - Rácio de Remineralização após ciclos de Desmineralização-Remineralização	38
Tabela 6 - Resultados de estudo da remineralização e deposição de cálcio.....	40
Tabela 7 - Resultados da rigidez da superfície antes e após tratamento das amostras	42
Tabela 8 - Resultados da diferença de profundidade (A) das lesões e do ganho de mineral (B).....	43
Tabela 9 - Resultados da rigidez e da composição mineral apos tratamento dos diversos grupos	46
Tabela 10 – Fármacos e suas principais propriedades importantes para a remineralização	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

ACP – Fosfato de cálcio amorfo

CPP – Fosfopéptido de caseína

°C – Grau Celcius

C – Carbono

Ca, Ca²⁺ - Cálcio e íão cálcio, recpetivamente

ddH₂O – Água desionizada

F, F⁻ - Fluor e íão fluoreto, respetivamente

FA – Fluorapatite

FDA – Food and drug administration

FHA – Hidroxiapatite fluoretada

g – Grama

Glu – Glutamato

HA – Hidroxiapatite

K⁺ – Íão potássio

L – Litro

MFP – Monofluorfosfato

mg – Miligrama

Mg²⁺ – Íão magnésio

mL – Mililitro

mM – Milimolar

mm – Milímetro

Na⁺ – Íão sódio

Nano-HA - Nanohidroxiapatite

nm – Nanómetros

O – Oxigénio

P – Fosforo

ppm – Partes por milhão

Ser – Serina

Ser(P) – Serina fosforilada

%SMH – Percentagem de superfície remineralizada

µg – Micrograma

µm – Micrómetro

Fórmulas Químicas:

BaCl₂ – Cloreto de bário

CaCl₂ – Cloreto de cálcio

CaGP – Glicerofosfato de cálcio

CaF₂ – Fluoreto de cálcio

CaHPO₄ – Fosfato de cálcio

Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ – Cristal de hidroxiapatite

CO₃³⁺ – Ião carbonato

HCl – Ácido Clorídrico

H₂O – Água

H₃O⁺ – Ião hidrônio

HPO₄²⁻, Na₂HPO₄ – Ião hidrogenofostato e hidrogenofosfato de sódio

H₂PO₄⁻, KH₂PO₄ - Ião di-hidrogenofosfato e di-hidrogenofosfato de potássio

NaF – Fluoreto de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

PO₄³⁻ – Ião fosfato

SiO₂–CaO–P₂O₅ – Fosfossilicato de cálcio

SiO₂ – Óxido de sílica

Si(OH) – Hidróxido de sílica

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de fármacos potenciadores da remineralização não invasiva do esmalte constitui uma importante área de estudo, uma vez que atualmente a estética dentária corresponde a uma das grandes preocupações do Ser Humano (Cardoso et al., 2014; Wang & Lussi, 2012). Dado que, o tratamento estético nesta vertente implica elevados custos económicos, a preocupação dos cientistas remete-se em estudar moléculas com potenciais propriedades remineralizantes, de maneira a reduzir esses custos (Burt, 2006; Li, Wang, Joiner, & Chang, 2014; von Fraunhofer & Rogers, 2006).

Com o fácil acesso a alimentos, refrigerantes gaseificados e certas substâncias tóxicas (tabaco, por exemplo) houve um aumento da erosão do esmalte consequente de alterações de pH provocadas por estes mesmos produtos (Wang & Lussi, 2012). A desmineralização causada pela cárie dentária, doença que afeta o esmalte através da bactéria *estreptococcus mutans* (principalmente) diminuiu bastante no final dos anos 1970. Tal pensa-se ter sido devido à adição de fluor nas águas de consumo público e a produtos de higiene oral (Cochrane, Cai, Huq, Burrow, & Reynolds, 2010).

O Fluor apresenta toxicidade em concentrações elevadas e, como tal, existe a necessidade de procurar outros agentes remineralizantes e/ou preventivos menos tóxicos (Cochrane et al., 2010). A utilização individual de iões fosfato e iões cálcio mostrou não ser viável, uma vez que apresentam baixa solubilidade, podendo precipitar de forma indesejável e formar tártaro dentário (Cai et al., 2009; Cochrane et al., 2010). Ao longo dos anos, vários cientistas têm estudado diversos fármacos potenciadores da remineralização do esmalte e têm sido conseguidos bons resultados *in vitro*. Porém, a falta de ensaios clínicos tem sido uma barreira no desenvolvimento deste tipo de fármacos (Amaechi et al., 2013a; Cardoso et al., 2014; Kitasako et al., 2011; Souza et al., 2010). Como se discutirá mais adiante, os fármacos de origem natural têm um grande poder remineralizante, como a caseína (constituente do leite), a teobromina (proveniente do cacau), o xilitol e a goma arábica (atualmente utilizados em pastilhas), principalmente não possuem efeito tóxico no organismo uma vez que a sua clearance oral é rápida (Amaechi et al., 2013b; Onishi et al., 2008; Pinto, Caira, & Cuollo, 2012). Fármacos como o fluor, os vidros bioativos e os fosfopéptidos de caseína têm sido os mais utilizados para a remineralização do esmalte, como mostra o capítulo 2.

Os diversos mecanismos de ação que este tipo de fármacos apresenta constitui uma base para o desenvolvimento dos mesmos, e como profissional de saúde, a importância de entender o que acontece a nível químico é a chave para desbloquear as barreiras existentes em cada um deles e perceber se é melhor utilizar o fármaco sozinho ou em associação com outro.

A revisão bibliográfica presente remete para estratégias de remineralização do esmalte a nível químico. Para tal é necessário perceber todo o processo de formação do esmalte tal como todo o meio que o rodeia, saliva, flora e todos os processos que envolvem cada um dos fármacos a nível da cavidade oral, de maneira a poder auxiliar de qualquer maneira possíveis leitores desta revisão.

1.1 Esmalte

Os dentes (figura 1) possuem uma estrutura complexa e única, sendo a face mais externa o esmalte e interiormente a este encontramos a dentina que cobre a polpa dentária, responsável pela nutrição e sensibilidade do dente uma vez que é irrigada por vasos sanguíneos e nervos (Brezeanu & Beresescu, 2011).

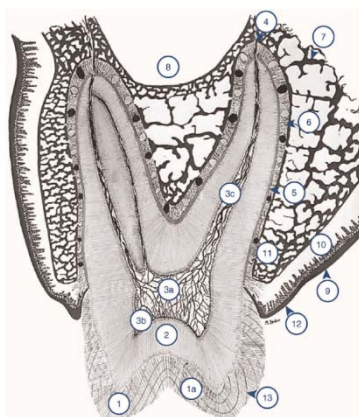


Figura 1 - Estrutura do dente e respectivos componentes. (1) esmalte; (2) dentina; (3a) câmara pulpar; (3b) corno pulpar; (3c) polpa radicular; (4) forâmen apical; (5) cimento; (6) fibras do ligamento periodontal; (7) osso alveolar; (8) seio maxilar; (9) mucosa; (10) submucosa; (11) vasos sanguíneos; (12) gengiva; (13) linhas de Retzius (Roberson et al, 2006).

O esmalte tem origem ectodérmica, ou seja, surge da ectoderme, uma porção do germe embrionário responsável pela origem de várias células. Os ameloblastos correspondem às células responsáveis pelo início da formação do esmalte formando, pelos processos de Tomes, uma coluna que liberta prismas de Hidroxiapatite (HA), ao qual se dá o nome de estágio secretório da produção do esmalte. Após o término deste estágio surge o de maturação, que corresponde à mineralização completa dos prismas de HA, formando o esmalte definitivo (Levine, 2011).

A Hidroxiapatite é o mineral constituinte do esmalte e corresponde à forma cristalizada do fosfato de cálcio (S Huang, Gao, Cheng, & Yu, 2011; Levine, 2011; Roveri et al., 2009). Os íons de cálcio e fosfato precipitam quando a concentração excede a solubilidade dos mesmos. O íon cálcio é sempre um catião divalente (Ca^{2+}), enquanto o íon fosfato pode apresentar-se em diferentes formas iônicas, correspondendo a diferentes graus de protonação, formas essas que dependem do pH do meio (figura 2). Podemos encontrar o anião di-hidrogenofosfato (H_2PO_4^-), o hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}) e o fosfato (PO_4^{3-}). O fosfato de cálcio mono-hidrogenado apresenta uma constante de solubilidade de 10^{-6} e o fosfato de cálcio di-hidrogenado uma constante de 10^{-4} , o que significa que, a um pH de 6,2, o HPO_4^{2-} é cerca de 100 vezes menos solúvel que o H_2PO_4^- (Levine, 2011).

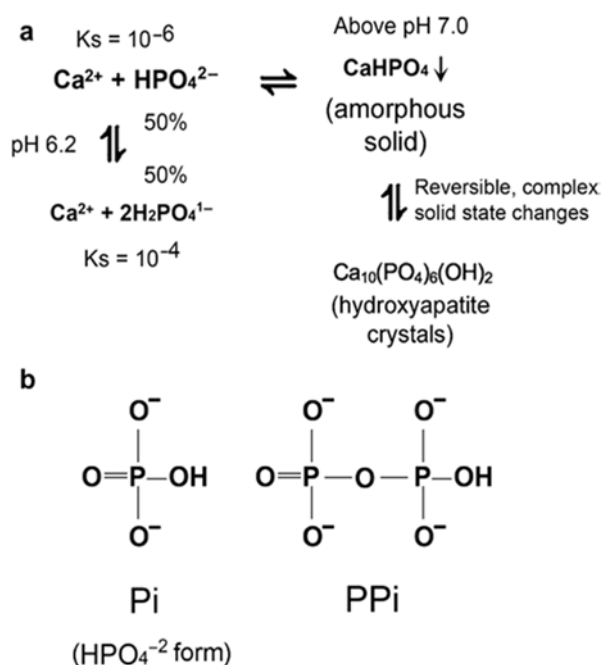


Figura 2 - Precipitação do fosfato de cálcio e estrutura do ortofosfato (Pi) e do pirofosfato (PPi). (a) Precipitação e solubilidade do fosfato de cálcio a diferentes pH. A pH 6,2 o fosfato de cálcio di-hidrogenado é 100 vezes menos solúvel que o fosfato de cálcio monohidrogenado. A pH 7,0 podemos observar que grande maioria dos íons de fosfato são monohidrogenados. O fosfato de cálcio monohidrogenado precipita num sólido amorfo que sofre, por espontaneidade, um rearranjo e forma o cristal de Hidroxiapatite. (b) estruturas da forma ionizada do Pi e PPi a pH 7,2 (Levine, 2011).

1.2 Erosão Dentária

A erosão dentária é uma condição multifatorial, podendo ser causada por diversos agentes intrínsecos e/ou extrínsecos e consiste na desmineralização do esmalte dentário (Wang & Lussi, 2012). Estudos mostram que a prevalência de erosão é superior em adultos (52-56 anos) comparativamente a jovens (32-36 anos) (Benjakul & Chuenarrom, 2011). O processo de desmineralização do esmalte está associado a um aumento da ingestão de alimentos e bebidas ácidas (Wang & Lussi, 2012). Sendo uma condição multifatorial depende de diversos fatores, químicos e biológicos (Cochrane, Cai, Huq, Burrow, & Reynolds, 2010).

Biologicamente, a erosão depende da estrutura do dente e da sua interação com os tecidos moles, língua e gengiva. A saliva tem um papel importante na erosão dentária, uma vez que funciona como barreira semipermeável de proteção do esmalte, dado que apresenta efeito tampão, isto é, impede alterações do pH da cavidade oral (Cochrane et al., 2010). Na sua constituição encontramos diversos iões, como o cálcio e o fosfato, sem os quais a remineralização dentária não pode ser efetuada (Zero & Lussi, 2005). Estudos mostraram que a diminuição de fluxo salivar está diretamente relacionado com um aumento da erosão, devido a uma deficiência no sistema tampão (Benjakul & Chuenarrom, 2011; Järvinen, Rytömaa, & Heinonen, 1991).

Quimicamente, a ingestão diversa e incorreta de alimentos e bebidas alteram, nos dias de hoje, não só o pH da cavidade oral, como também a concentração de minerais na (Wang & Lussi, 2012). Estas alterações levam a perdas de iões (cálcio e fosfato) e a uma diminuição da capacidade de quelação do cálcio. As bebidas gaseificadas apresentam também capacidade tampão, o que torna mais difícil e mais lento o processo de neutralização do meio por parte do fluido salivar (Wang & Lussi, 2012; Zero & Lussi, 2005).

A erosão pode ser classificada em 4 graus como se pode observar na tabela 1.

Tabela 1- Diversos graus de erosão dentária, graus 2 e 3 verifica-se também erosão da dentina (Adaptado de Wang & Lussi, 2012).

Grau	Condição
0	Não há erosão
1	Perda inicial do esmalte da superfície
2	Perda esmalte inferior a 50%
3	Perda de esmalte superior a 50%

O processo de desmineralização dentária corresponde à dissolução dos prismas de Hidroxiapatite aquando na presença excessiva de iões H^+ e respetiva diminuição do pH, como se pode observar na figura 3 (Dong, Chang, Zhou, & Lin, 2010; Hannig & Hannig, 2010; S. Huang, Gao, Cheng, & Yu, 2011; Zou et al., 2008).

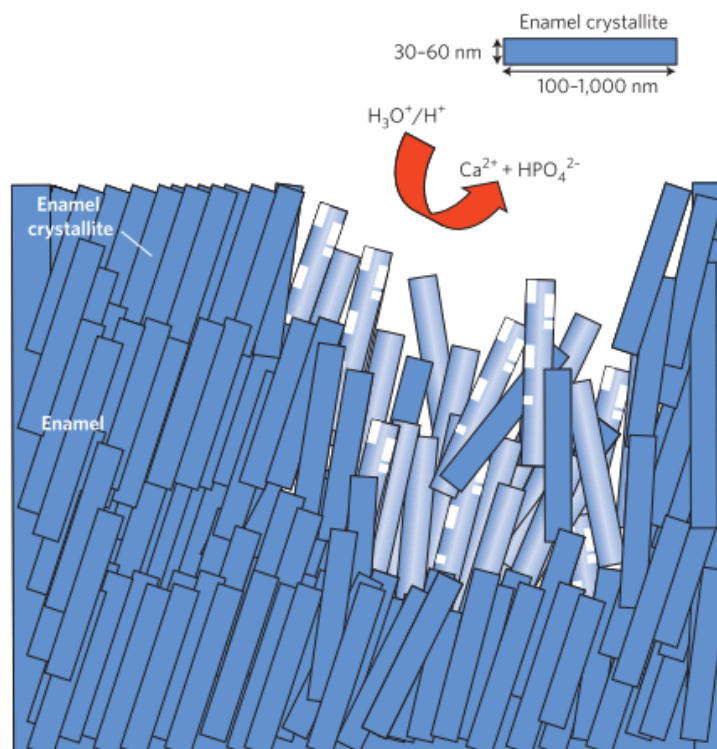


Figura 3 - Erosão dentária provocada pelo excesso de H^+ na cavidade oral, provocando dissolução dos prismas de Hidroxiapatite em iões livres de fosfato e cálcio (seta vermelha) (Hannig & Hannig, 2010).

1.3 Caries Dentária

Para estudar a remineralização dentária é necessário também entender um pouco dos fatores que causam a sua desmineralização, sendo a cáries dentária uma das principais causas de desmineralização (Cai et al., 2009; Cochrane et al., 2010; Hannig & Hannig, 2010; S. Huang et al., 2011; Järvinen et al., 1991; Tschoppe, Zandim, Martus, & Kielbassa, 2011; Zero & Lussi, 2005) é importante estudar o seu mecanismo.

O organismo responsável pela cárie dentária é o *streptococcus mutans*, bactéria Gram + pertencente ao género *streptococcus* (Cochrane et al., 2010; Robinson et al., 2000). A desmineralização ocorre durante a fermentação dos hidratos de carbono pela bactéria, do qual resulta a libertação de um ácido (lactato), que por sua vez origina uma

alteração do pH do meio devido à libertação de iões H^+ , dissolvendo os iões cálcio e o fosfato, como se pode observar na figura 4 (Hannig & Hannig, 2010). Estas lesões iniciais, quando não são tratadas, podem criar cavitação, ou desmineralização profunda do esmalte, chegando até à dentina (von Fraunhofer & Rogers, 2006).

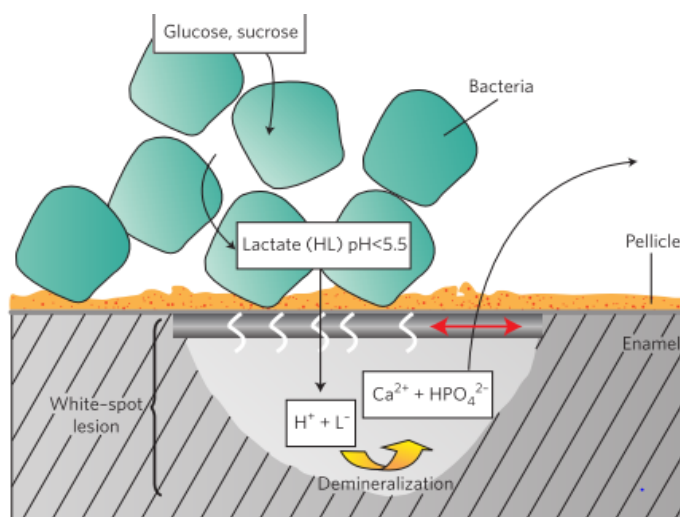


Figura 4 - White spot lesion. Metabolismo da fermentação de hidratos de carbono formando um ácido (lactato) que desmineraliza o esmalte (fosfato de Cálcio) através da libertação de iões H^+ , no entanto forma uma faixa com porosidade para entrada de iões como se pode observar através da seta vermelha onde ocorre mineralização (Hannig & Hannig, 2010).

1.4 Placa Bacteriana

A placa bacteriana consiste num biofilme que adere a uma película de proteínas, proveniente da saliva (figura 5) (Hannig & Hannig, 2010). Este biofilme é a principal causa de doenças na cavidade oral como gengivite, caries e a periodontite e, como tal, é importante o seu controlo dado que a caries é o principal fator de desmineralização dentária (Pessoa, Mestre, Paula, & Gebert, 2002). Existem dois mecanismos de controlo da placa bacteriana, um mecânico e um químico. Como fatores mecânicos encontramos diversos dispositivos de remoção de placa como a escova dentária, fio dentário, palitos interdentais, escovas interproximais, raspagem supragengival e escovas elétricas (Pessoa et al., 2002). Quimicamente encontramos uma variedade de produtos comercializados, como por exemplo, dentífricos, clorhexidina (desinfetante), fluoretos, óleos essenciais, compostos quaternários de amónia (cetrimida, por exemplo), agentes oxidantes e por fim triclosan e sais minerais (Pessoa et al., 2002).

Tratando-se de bactérias localizadas unicamente na cavidade oral, a sua manutenção depende da sua capacidade de adesão, por isso uma ligeira alteração na sua constituição ou do meio que as rodeia pode provocar o desequilíbrio em todo o sistema, podendo originar o favorecimento ou desfavorecimento da remineralização do esmalte. Com a simples alteração do consumo de açúcar (glucose) por parte das bactérias, pode originar uma descida de pH para cerca de 5,5, o que favorece a espécie *streptococcus mutans* (agente cariogenico). Por outro lado um dado consumo de glucose pode manter o pH acima de 5,5 e aí proporcionar a remineralização do esmalte (Baratiri et al., 2003).

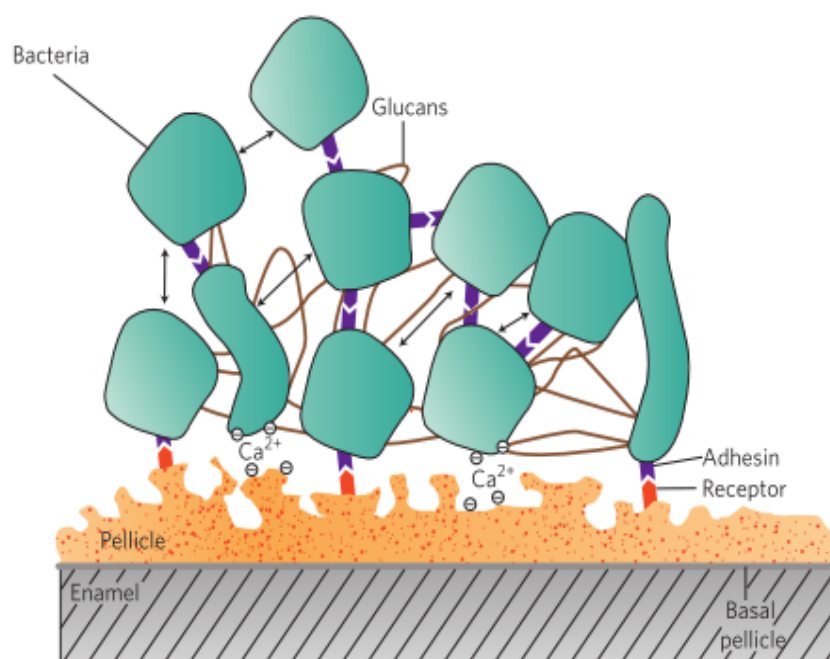


Figura 5 - Biofilme e bioadesão da placa bacteriana ao esmalte dentário. As proteínas interagem com o esmalte dentário, formando uma película proteica à qual se liga a adesina (proteína constituinte da bactéria), formando um biofilme com a ajuda de ponte de cálcio, como se observa na figura (Hannig & Hannig, 2010).

1.5 Remineralização

A remineralização consiste no processo de transferência de aniões e catiões até ao núcleo da lesão do esmalte e a consequente regeneração (Tschoppe et al., 2011). Sendo a saliva o principal agente biológico de proteção e remineralização da cavidade oral é importante conhecer a sua composição (tabela 2).

1.6 Saliva

A saliva é o fluido que confere proteção na cavidade oral, a diversos níveis (Kaplan, Baum, Investigations, & Branch, 1993). A sua constituição pode ser dividida em matéria orgânica e matéria inorgânica. Como matéria orgânica presente na saliva temos proteínas, aminoácidos, imunoglobulinas, ureia, por exemplo. A parte inorgânica da saliva possui catiões (como o sódio, cálcio, potássio, entre outros) e aniões (como cloreto, bicarbonato, fluor, entre outros) (Cochrane et al., 2010; Kaplan et al., 1993). Como se pode observar na tabela 2 a saliva tem diversas funções, não só a nível de proteção da cavidade dentária mas também digestivas (amílase, lipase). Devido à sua função antibacteriana (lisozima, peroxidases, por exemplo) e à presença de estaterina, a saliva desempenha um papel importante não só na prevenção da desmineralização como também na remineralização dentária. A estaterina tem a função de transportar os iões de cálcio e fosfato durante a secreção da saliva por parte das glândulas salivares, bem como de inibir a precipitação espon-tânea, em soluções supersaturadas, de fosfato de cálcio (Mendoza-barrera, 2005).

A saliva tem ainda um papel importante na manutenção do pH do ambiente oral, uma vez que apresenta capacidade tampão. Esse efeito tampão está relacionado com a concentração do ião bicarbonato e a sua capacidade de neutralizar ácidos, mantendo o pH próximo do neutro (pH 7,0). O seu papel antibacteriano é importante no contexto deste trabalho dado ser a principal causa de desmineralização de esmalte, como já referido anteriormente.

Tabela 2 - Componentes da saliva e suas principais funções (Adaptado de Levine, 2011).

Componentes da saliva	Função
Mucinas	Lubrificante da mucosa oral e dos alimentos; Inibição da colonização bacteriana
Água	Facilita a clearance; Inibição da colonização bacteriana
α -amilase, lipase lingual	Digestão do amido e de lípidos
Bicarbonato de sódio, anidrase carbónica, estaterina	Estabilização da superfície do dente
Lisozima, lactoferrina, peroxidases, histatinas	Ação imunológica inata, não específica e antibacteriana
Aglutinina e mucina salivares	Ação imunológica inata que favorece a clearance bacteriana
Imunoglobulina secretória (IgA)	Ação imunológica adquirida, específica, que favorece a clearance bacteriana

O principal alvo desta revisão vai de encontro com o estudo de fármacos com propriedades regeneradoras do esmalte dentário de maneira a encontrar um possível fármaco ou associação de fármacos, capaz de induzir a remineralização de forma mais adequada sem qualquer efeito tóxico adjacente.

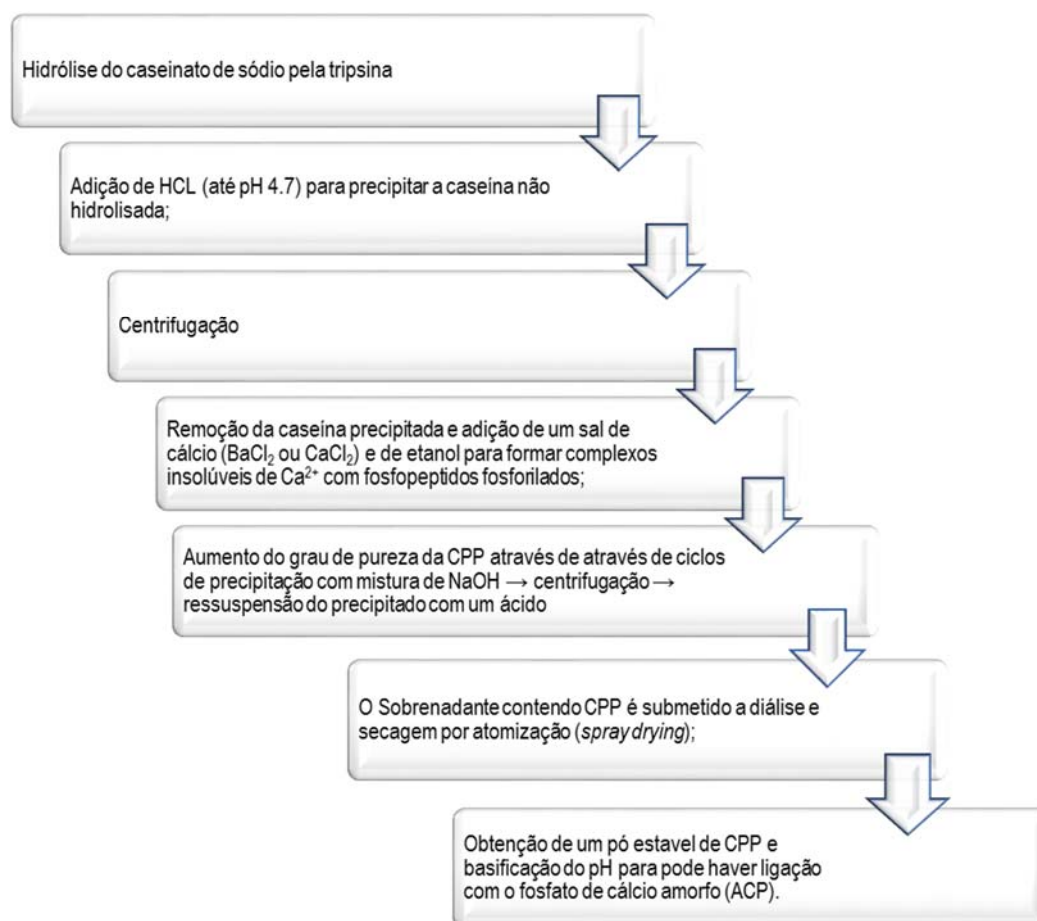
2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Sistema CPP-ACP

Fosfopeptidos de caseína (CPP)

Os CPP são fosfopéptidos de caseína bioativos que possuem fósforo unidos a resíduos de serina, Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu, por ligações monoéster. Estes fosfopéptidos são provenientes da caseína (descoberto nos anos 80) (FitzGerald, 1998; Nongonierma & Fitzgerald, 2012; Oliveira et al., 2014; Zheng, Zheng, Zhang, Qian, & Zhou, 2013). A caseína é uma proteína do leite bastante insolúvel e com capacidade de estabilizar fosfato de cálcio, formando o fosfato de cálcio amorfo (ACP). Dizem-se bioativos por necessitarem de ativação por hidrólise enzimática ou química para se tornarem ativos (Nongonierma & Fitzgerald, 2012; Oliveira et al., 2014). Estes fosfopéptidos ligam catiões bivalentes (cálcio, magnésio, ferro, entre outros) e aumentam a solubilidade dos mesmos, podendo alterar o equilíbrio de desmineralização/remineralização do esmalte dentário e a capacidade tampão da saliva (Cai et al., 2009; Zheng et al., 2013). Dado o seu carácter não tóxico, tornaram-se importantes objetos de estudo na área da odontologia restaurativa.

Como foi acima referido, Os CPP são compostos bioativos, necessitando de ativação para exercerem a sua ação farmacológica. Esta ativação pode ser por: (1) hidrólise enzimática *in vitro*, seguida de proteólise por enzimas de mamíferos, micróbios e plantas, ou recorrendo a processos físicos (ultrassons e micro-ondas) ou tratamento químico; (2) hidrólise por bactérias proteolíticas durante manufatura de lacticínios fermentados; (3) digestão *in vivo* por ação de hidrólases pancreáticas e gástricas durante o trânsito gastrointestinal (Nongonierma & Fitzgerald, 2012). Fitzgerald et al. (FitzGerald, 1998) utilizaram a tripsina para realizarem a hidrólise enzimática, tendo obtido CPP com capacidade de ligação ao cálcio de 0,60 mg (Ca^{2+}) por mg de CPP, e solubilizar 14,7 mg de Ca^{2+} por miligrama de CPP. No seguinte esquema podemos observar todo o processo de obtenção da CPP até se obter uma CPP estável capaz de se ligar ao ACP.



Esquema representando o processo de obtenção do sistema CPP (Adaptado de Nongonierma & Fitzgerald, 2012).

Obtenção CPP-ACP

O sistema CPP-ACP foi introduzido pela primeira vez em 1998 e patentado com o nome de RecaldentTM (Cai et al., 2009). Este sistema favorece a difusão dos íons minerais até ao local lesado (desmineralizado) do esmalte. É um agente cariostático, reduzindo a erosão dentária em pacientes com refluxo gastroesofágico. Em 2010 foi testada a citotoxicidade e estimou-se 70% de viabilidade em células expostas durante 7 dias e, por ser um produto de aplicação tópica, este resultado foi aceite pela FDA (*Food and drug administration*) como “*generally recognize as safe*” (Cochrane et al., 2010). A obtenção deste complexo foi descrito por Reynolds (2008) e consiste na adição de duas moléculas como fontes de cálcio e fosfato (CaCl_2 e Na_2HPO_4 , respetivamente) e de NaOH para ajustes e pH. Após formar a solução filtra-se a mesma para retirar impurezas, usando um

filtro de aproximadamente 1 μm onde fica retido o complexo pretendido (Farooq, Moheet, Imran, & Farooq, 2013; Hannig & Hannig, 2010; Nongonierma & Fitzgerald, 2012).

Mecanismo de Ação

O sistema CPP-ACP possui diversas características importantes para se realizar o processo de remineralização como a supersaturação dos íons cálcio e fosfato na saliva; capacidade de tamponizar a placa bacteriana (figura 6) e a saliva; promoção da remineralização da HA; prevenção e redução da desmineralização da HA; atuação nos micro-organismos da placa bacteriana (figura 7); manutenção da concentração iônica sob a superfície da lesão.

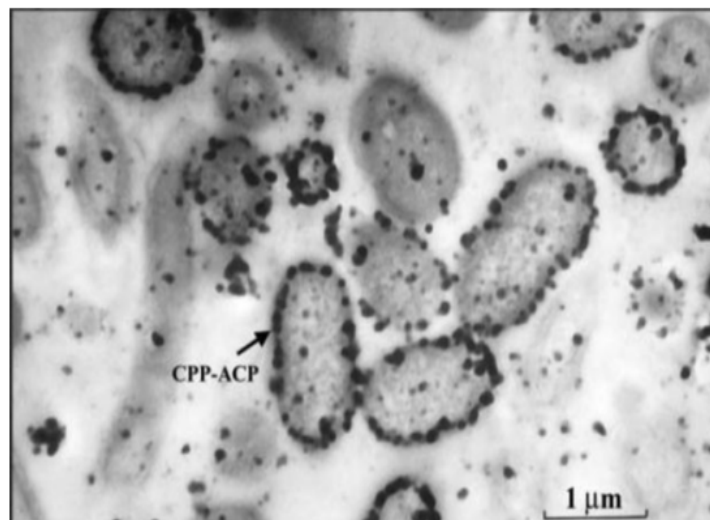


Figura 6 - Imagem eletrônica microscópica do sistema CPP-ACP ligado a bactérias da placa inibindo a sua adesão (Farooq et al., 2013).

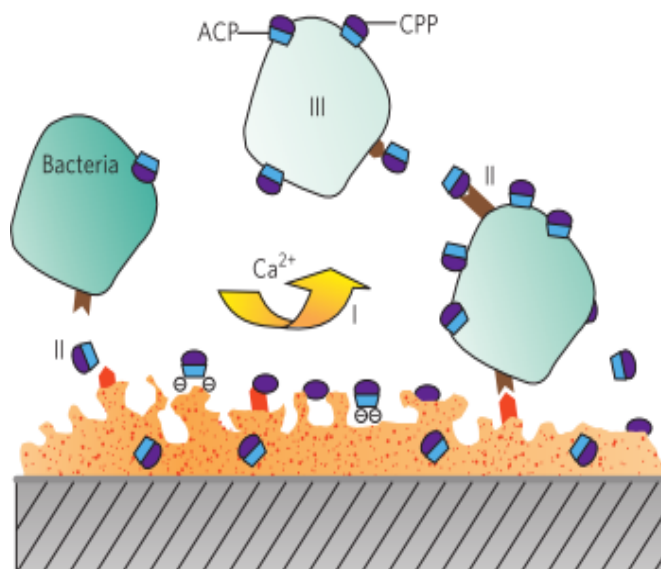


Figura 7 - Inibição da adesão bacteriana através do CPP-ACP. O CPP-ACP (roxo e azul) liga-se à película adquirida competindo com os locais de ligação do cálcio à placa (I). O CPP-ACP liga-se à superfície das bactérias (castanho) interferindo com a ligação das mesmas à superfície dentária (II). O CPP-ACP liga-se também a macromoléculas da película adquirida (vermelho) impedindo a adesão das bactérias. A viabilidade das bactérias fica diminuída (III) (Hannig & Hannig, 2010).

Estudos realizados

Em 2013 foram realizados 3 estudos para analisar o comportamento remineralizante da CPP-ACP. O primeiro por Zheng et al onde foi estudado o efeito da CPP-ACP em esmalte lesado artificialmente. Extraíram terceiros molares (em quantidade de 10) saudáveis e dividiram os dentes em 4 partes e essas amostras foram divididas em 2 grupos: controle (sem lesão); lesado ao qual foi adicionado uma solução CPP-ACP a 2% a 37° a pH 7 durante 12 horas. Para obter a lesão pretendida os dentes para análise foram expostos a uma solução de ácido cítrico (normalmente constituinte de bebidas) a 1mM, 37°, pH 3.2 durante 10 minutos. Após exposição testaram 4 características (morfologia microscópica do esmalte, composição química, dureza e resistência). Estes parâmetros foram avaliados por microscopia de varrimento confocal a laser (morfologia), por microscopia eletrônica de varrimento (morfologia) por energia dispersiva de raio-x (composição), por nanoindentação (dureza) e por nanorisco (resistência).

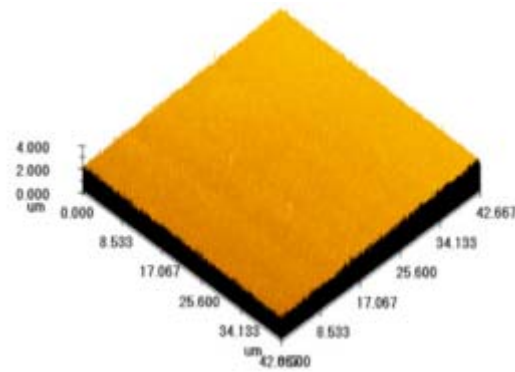


Figura 8 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras saudáveis (Zheng et al., 2013).

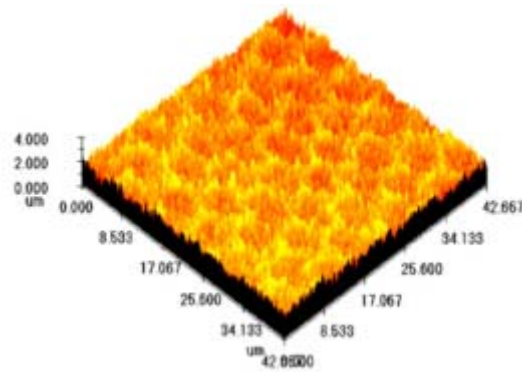


Figura 9 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras erodidas (Zheng et al., 2013).

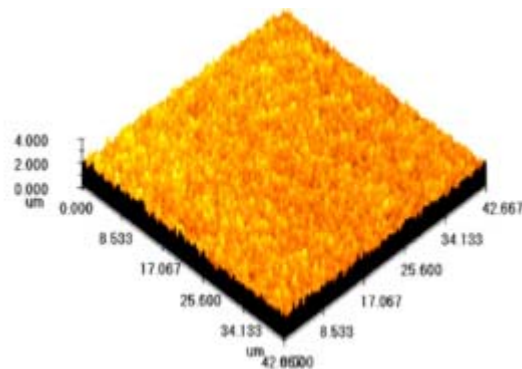


Figura 10 - Microscopia de varrimento confocal a laser- imagem 3D das amostras remineralizadas (Zheng et al., 2013).

Como se pode observar na figura 8 a imagem 3D mostra uma camada regular correspondente a esmalte saudável (amostra controlo). A figura 9 revela a amostra erodida antes da aplicação do CPP-ACP com a estrutura tipo de um favo-de-mel. O grande objetivo é fazer com que o esmalte volte a adquirir esta lisa camada e como se pode observar

na figura 10 parte desse aspeto tipo favo-de-mel esta parcialmente coberto, sugerindo que o CPP-ACP não reverte totalmente a desmineralização mas possui capacidade remineralizante.

A nível de composição química, e através da análise da energia dispersiva de raio-x (figura 11), pode afirmar-se que os principais constituintes do esmalte são o carbono, o oxigénio o fosfato e o cálcio (estes dois últimos em maior concentração).

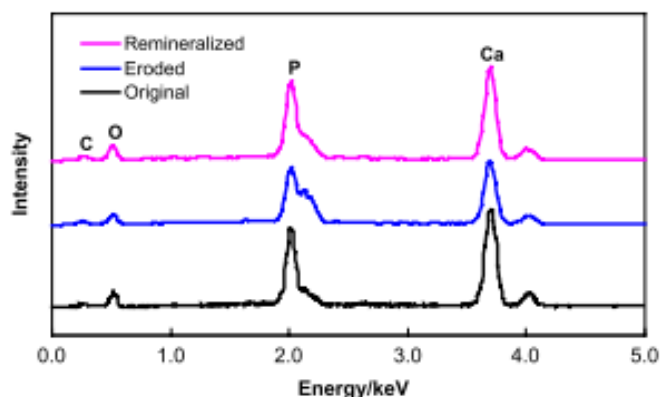


Figura 11 - Análise da energia dispersiva de raio-x dos três grupos de amostras (Zheng et al., 2013).

Como se pode observar pela figura 11 as amostras erodidas apresentam um menor pico no fosfato e no cálcio comparativamente com o controlo e com a amostra exposta ao CPP-ACP. Mais uma vez é possível afirmar-se, também através da análise da energia dispersiva de raios X, que o CPP-ACP aumentou a concentração de cálcio e fosfato das amostras expostas a este composto, embora não se tenha obtido a concentração desejada, ou seja, picos iguais à amostra controlo.

Relativamente à dureza e ao módulo de elasticidade (figura 12), estes parâmetros mostraram-se diminuídos nas amostras lesadas mas com o produto houve um aumento de ambos os parâmetros. Por fim podemos aferir que o complexo não permite a total regeneração da dureza nem do módulo de elasticidade, uma vez que não atinge os valores do esmalte saudável.

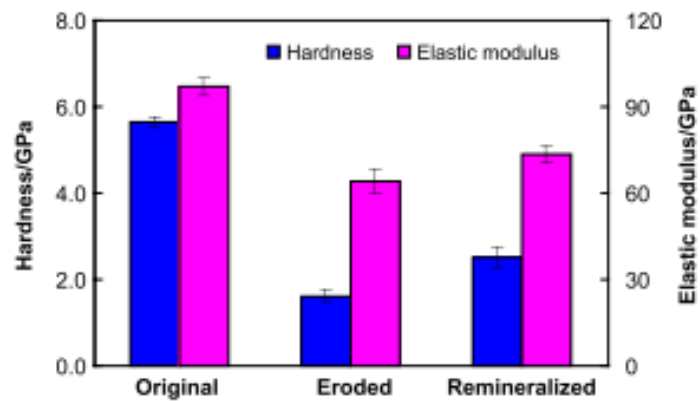


Figura 12 - Dureza e módulo de elasticidade dos três grupos de amostras (Zheng et al., 2013)

Para terminar, foi analisado a resistência através do volume de desgaste de cada grupo (figura 12). As amostras foram submetidas a uma força constante e observou-se que a amostra erodida é aquela que apresenta maior desgaste (esperado), seguido da amostra remineralizada pelo CPP-ACP e por último a que apresentou o menor desgaste foi a amostra saudável (controle).

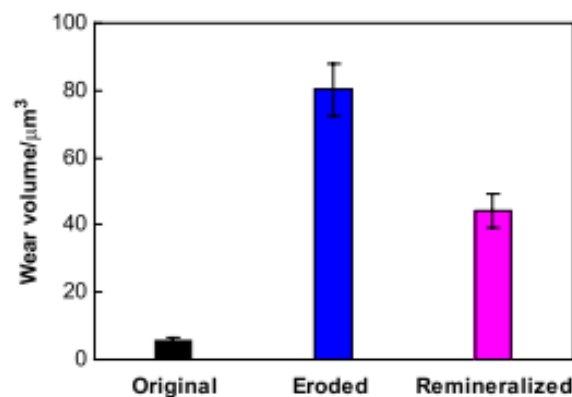


Figura 13 - Volume de desgaste por nanoriscos nos três grupos de amostra (Zheng et al., 2013).

Podemos então, mais uma vez, dizer que a CPP-ACP teve capacidade de remineralizar parte do esmalte, uma vez que em todos os parâmetros mostrou-se eficaz mas no entanto não reverte totalmente a lesão.

Num segundo estudo, realizado *in situ* por Grewal, Kudupudi & Grewal (2013), onde foi testado o potencial remineralizador da CPP-ACP em dentes lesados com Coca-

Cola, utilizaram-se 30 pré-molares e formaram-se 3 grupos: controlo (saudável); lesado (com coca-cola) e o grupo tratado com pasta CPP-ACP. A erosão do dente foi realizada através do bochecho de 30 ml coca-cola durante 1 minuto, 4 vezes por dia nos dias 1, 4, 8, 12 e 15 e aplicou-se a pasta a uma das amostras logo após o bochecho com o refrigerante. Para análise, dividiram as 30 amostras em 2 grupos de 15 e num grupo avaliaram a solubilidade do fósforo e do cálcio e no outro grupo analisaram a microscopia eletrónica de varrimento dos 3 grupos acima descritos.

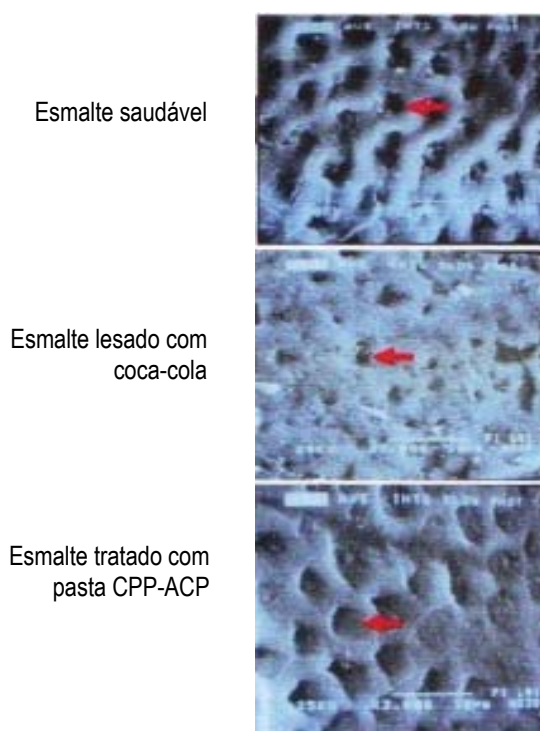


Figura 14 - Imagem microscópio eletrónico do grupo controlo, após exposição à coca-cola e após exposição à pasta contendo CPP-ACP do esmalte lesado (grewal et al. 2013).

Como se pode visualizar na figura 14, após o tratamento com a pasta os túneis sofreram deposição de mineral dado que a rugosidade diminuiu, no entanto não houve remineralização completa. Após estes diversos estudos pode afirmar-se que este sistema tem um potencial muito grande nesta área, uma vez que possui várias funções que potenciam a remineralização. No entanto, requer mais estudos, apesar de já serem usados em alguns produtos comerciais.

2.2 Nano-Hidroxiapatite

Sendo o cristal de HA um constituinte do esmalte, alguns grupos estudaram o comportamento que esta molécula apresenta aquando da sua interação com o esmalte (S. Huang et al., 2011). Estes estudos mostraram que a HA não apresenta capacidade regeneradora do esmalte, pelo facto da sua dimensão ser elevada (0.5 μm) para ser utilizada e porque, quando aplicada, seria atraída para outros tecidos duros e então existiria muita perda e falta de seletividade do alvo pretendido (Tschoppe et al., 2011). Assim, reduziram as dimensões para nano-HA e micro-HA e estudaram as suas interações com lesões artificiais no esmalte dentário (S. Huang et al., 2011; Tschoppe et al., 2011).

A nano-HA e a micro-HA, após contacto com a lesão, apresentaram resultados diferentes. Com a primeira observou-se remineralização parcial do esmalte (principalmente no esmalte exterior), enquanto que com a segunda a remineralização não foi substancial. Em ambos os casos, a concentração de molécula foi igual num meio com pH neutro (7,0). Observou-se também que a pH ácido (pH 5,5) o processo de remineralização por parte do cristal de nano-HA foi mais rápido, ou seja, apresentou propriedades anti-cariogénicas (favorece remineralização e desfavorece desmineralização) (Cochrane et al., 2010; Tschoppe et al., 2011; Zero & Lussi, 2005). Os estudos incluíram análises, para ambas as moléculas, a valores de pH mais baixos, mas os resultados revelaram-se inconclusivos pois por um lado mostraram melhorias na rapidez de remineralização, por outro mostraram um aumento do risco de desmineralização devido ao excesso de iões H^+ (S. Huang et al., 2011).

Os investigadores justificam esta diferença com o aumento da concentração de cálcio nos estudos com cristais de nano-HA o que permite manter um estado de supersaturação do meio, estado necessário para mineralização, ou seja, para a deposição de cristais de apatite no meio. No entanto, referem que qualquer que seja a dimensão da molécula, esta apenas constitui um reservatório de fosfato de cálcio, uma vez que não se obtém a remineralização total do esmalte (S. B. Huang, Gao, & Yu, 2009; S. Huang et al., 2011).

Em 2009, Huang et al, compararam diversas percentagens de concentração de nano-HA (1, 5, 10 e 15%) com um controlo positivo (NaF) e um controlo negativo (água desionizada). O estudo teve como base observar a remineralização do esmalte por parte da nano-HA, utilizando esmalte de bovino previamente desmineralizado, após 12 dias e medindo-se a percentagem de superfície remineralizada (%SMHR) aos dias 3, 6, 9 e 12. A

figura 15 mostra os resultados obtidos neste estudo. Primeiramente pode afirmar-se que ambos controlo positivo e o negativo originaram a concentração esperada (cerca de 60% e 5%, respetivamente). Relativamente à nano-HÁ, as diversas concentrações mostraram diferentes percentagens de remineralização onde se observa um aumento da remineralização aquando do aumento da sua concentração. De facto, do dia 3 para o dia 6 houve um aumento acentuado da remineralização e a partir do dia 6 a regeneração do esmalte dentário começou a ficar constante. As concentrações 10 e 15% apresentaram resultados de remineralização muito semelhantes. Estes resultados levaram os autores do estudo a concluir não se justificar a utilização de concentrações de 15% em nano-HA na preparação de pastas dentífricas e outros produtos, uma vez que as concentrações de 10% em composto levam a resultados semelhantes (S. B. Huang et al., 2009). A análise por microscopia eletrónica da superfície do esmalte antes de ser desmineralizado, do esmalte desmineralizado, do esmalte após ação do NaF, da água desionizada e da nano-HA encontra-se na figura 16.

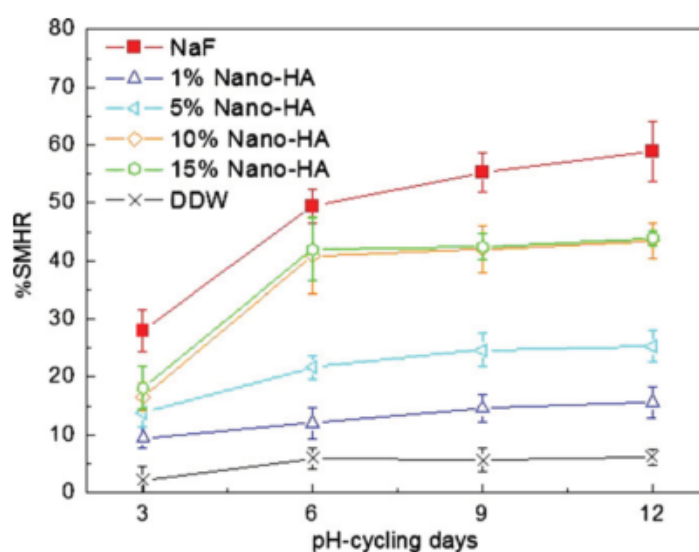


Figura 15 - Gráfico da percentagem de remineralização (SMHR) vs dias de exposição (S. B. Huang et al., 2009).

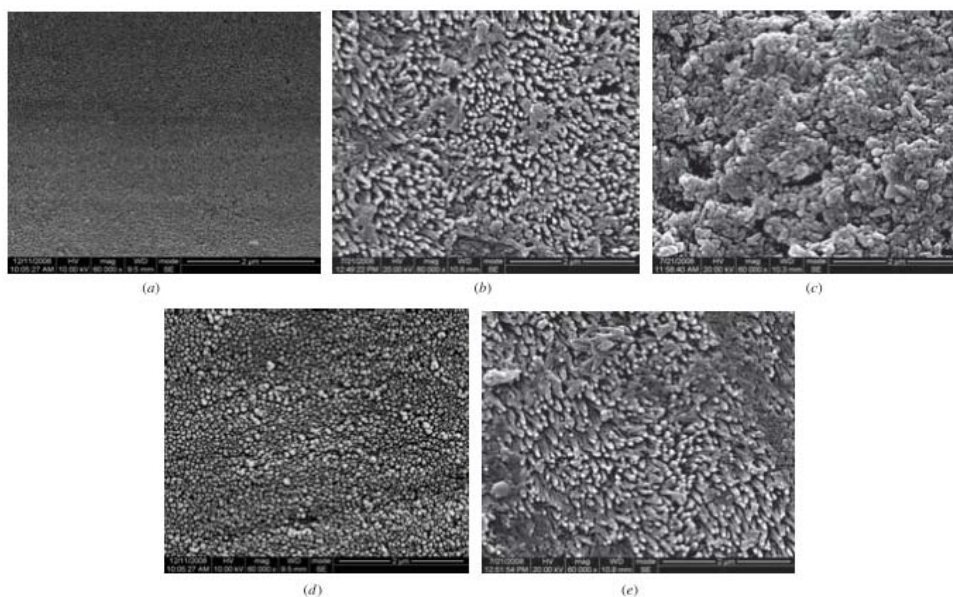


Figura 16 - Imagens de microscopia eletrônica.. (a)-esmalte saudável; (b) - lesão inicial do esmalte; (c) -Remineralização inicial por parte da Nano-HA (10%); (d) - Remineralização inicial por parte do NaF; (e) -Remineralização inicial por parte da ddH₂O (água desionizada) (Huang et al., 2009).

Comparando a amostra desmineralizada (controlo negativo) e a amostra remineralizada (controlo positivo) com o produto testado, podemos afirmar que existiu uma reversão do processo de desmineralização. Assim, este fármaco possui características que necessitam de ser melhor estudadas de maneira a poder ser utilizado em produtos comerciais para este tipo de tratamento.

2.3 Vidro Bioativo (fosfossilicato de sódio e cálcio)

O vidro bioativo (SiO₂-CaO-P₂O₅) forma-se através de um mineral sintético contendo sódio, cálcio, fosfato e sílica (elementos presentes no corpo humano). É um sal alcalino e a sua atividade depende da sua composição química (Dong et al., 2010; Madan, 2011). Foi desenvolvido pelos Dr. Len Litkowski e Dr. Gary Hack da University of Maryland e por Dr. David Greenspan da NovaMin® Technologies Inc” (Madan, 2011). Quando em solução aquosa (entrando em contacto com a saliva ou água), possui 3 fases: captação e troca de catiões; dissolução de (SiO₂) e precipitação de cálcio e fosfato. Nos

últimos anos, estudos mostraram que o biovidro é osteoprodutivo, isto é, estimula a produção de tecido ósseo, por promover a proliferação osteoblástica e a diferenciação celular e assim estimular a regeneração óssea. Sendo o dente um tecido ósseo, revelou-se importante perceber se o biovidro apresenta capacidade de remineralizar lesões de esmalte (Dong et al., 2010).

Em 2010, Dong e al, num estudo em que compararam vários tipos de vidro bioativo (45S; 58S e 77S) que se diferenciavam pela percentagem de compostos (tabela 3).

Tabela 3 - Composição dos diversos compostos presentes em diferentes tipos de biovidro (Adaptado de Dong et al., 2010).

Composição	SiO ₂	CaO	Na ₂ O	P ₂ O ₅
45S	44.8	26.5	23.4	5.3
58S	62.8	27.6	0	9.6
77S	73.7	16.5	0	9.8

Este estudo teve como base a análise dos comportamentos destes três tipos de biovidro num dente desmineralizado artificialmente, usando ácido cítrico (0,25%) a pH 4,0. Após a desmineralização cada dente foi exposto aos biovidros e colocado, durante 7 dias, numa solução contendo SOF (fonte de fluor). Após esse tratamento, analisou-se por microscopia eletrónica (Figura 17) o efeito remineralizante de cada biovidro e mediu-se a espessura da camada regenerada. Pela figura podemos observar que o tipo de biovidro que originou uma maior camada foi o 45S (4 µm) em relação aos outros dois tipos (58S com 2.2 µm e 77S com 1.5µm), o que indica que existiu uma maior remineralização com este composto.

Neste estudo foi ainda avaliado a razão de Ca/P (cálcio/fosfato) da camada formada pelos tipos de vidro (tabela 4). Como se pode verificar, a razão Ca/P manteve-se muito próxima do saudável apenas no caso do biovidro 45S, o corrobora a melhor capacidade remineralizadora deste composto.

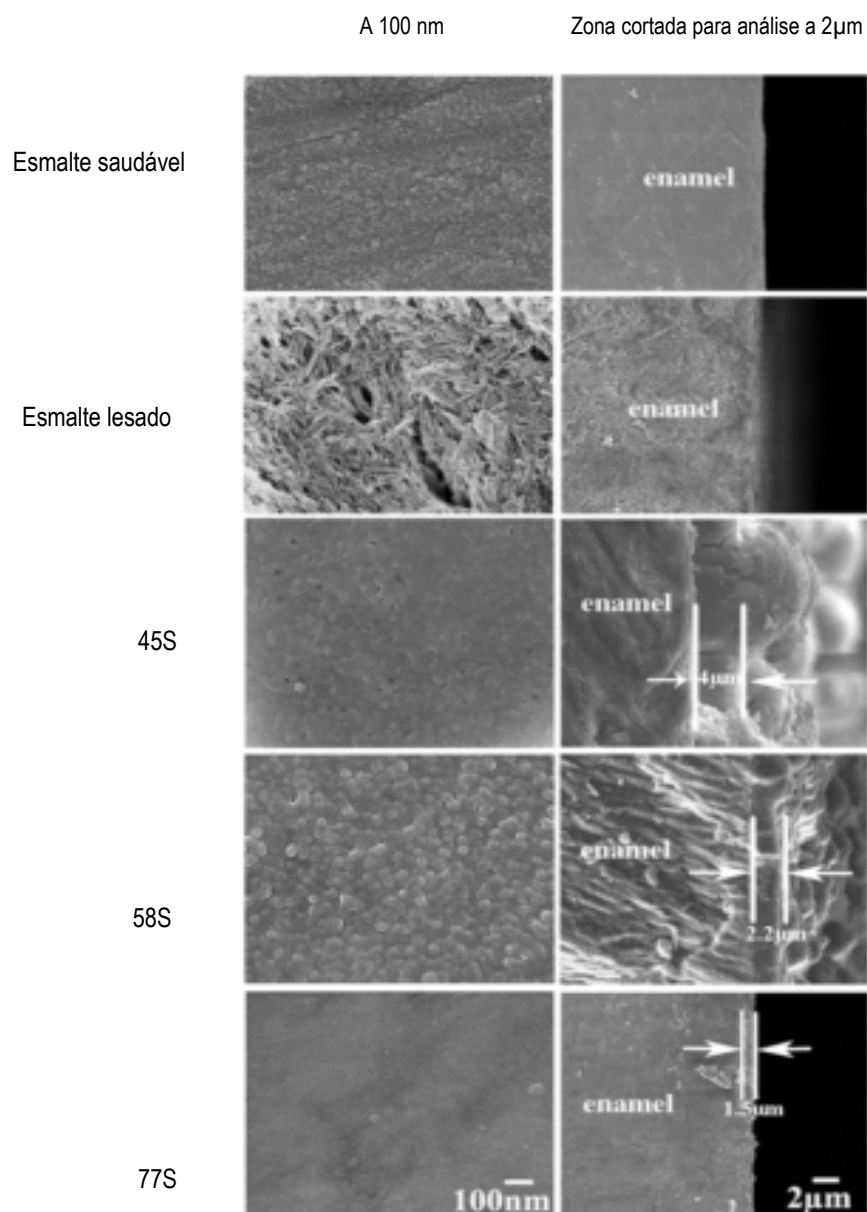
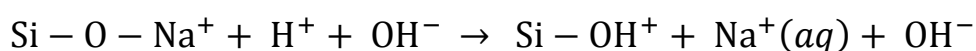


Figura 17 - Imagem microscopia eletrônica dos diversos tipos de tratamento e respectivas medidas das camadas formadas (Adaptado de Dong et al., 2010).

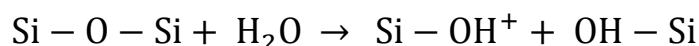
Tabela 4 - Razão Ca/P dos diferentes esmaltes analisados (saudável; lesado; 45S;58S;77S) (Adaptado de Dong et al., 2010).

Tratamento	Saudável	Lesado	45S	58S	77S
Razão Ca/P	1.61±0.02	1.50±0.001	1.60±0.02	1.54±0.02	1.51±0.01

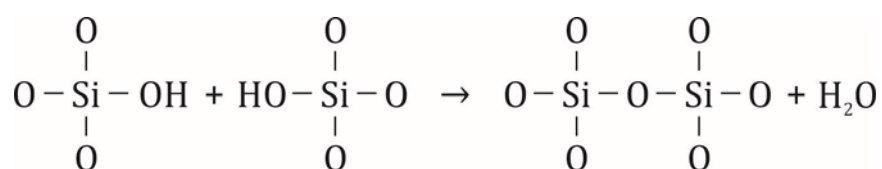
Quimicamente, o processo de remineralização possui 5 etapas. A primeira consiste numa troca do ião Na^+ (sódio) ou do ião K^+ (potássio) pelo ião H^+ ou pelo ião H_3O^+ da solução, seguindo a seguinte equação:



Em seguida a sílica solúvel liberta-se para a solução na forma de $\text{Si}(\text{OH})$ uma vez que se quebra a ligação de Si-O-Si:



Na terceira etapa a camada lesada sofre repolimerização e condensa numa camada rica em SiO_2 :



Nas duas últimas etapas, os iões Ca^+ (cálcio) e PO_4^{3-} (fosfato) migram até a superfície a camada de sílica e formam um composto amorfo ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$) através da deposição de cálcio e fosfato solúveis, provenientes da solução. Após a formação desta molécula amorfa, através da aquisição de iões como o OH^+ , CO_3^{2+} e F^+ presentes na solução forma-se a hidroxiapatite (Madan, 2011).

Os cientistas justificam esta diferença de remineralização entre os vidros através de dois fatores importantes: a presença de sílica e o rácio Ca/P. Apesar de o tipo 77S possuir maior percentagem de sílica mas não possui sódio e tem baixo rácio de Ca/P. O sódio afeta a dissociação do ião cálcio onde sem ele é muito difícil a presença de iões cálcio livres, solúveis, para a ocorrência da última etapa do processo de remineralização descrita

acima, tal acontece com o 55S (Madan, 2011). Assim o vidro de eleição corresponde ao 45S que possui sódio, um bom rácio de Ca/P e sílica em quantidade adequada para uma melhor resposta de remineralização (Dong, Chang, Zhou, & Lin, 2010).

2.4 Agentes Naturais

Com o aumento da toxicidade de moléculas já conhecidas, tornou-se imperativo a procura de produtos não tóxicos. Sendo a cavidade oral muito complexa a descoberta de produtos naturais antibacterianos e anti-cariogénicos tem sido importante em diversas áreas de estudo, nomeadamente, na prevenção de caries dentarias e na remineralização do esmalte dentário (Cheng, Li, Hao, & Zhou, 2010; Onishi et al., 2008; Tian et al., 2009).

Chitosan

O chitosan é um fármaco de origem natural, não tóxico, biodegradável e biocompatível, obtido através da desacetilação do chitina e devido à sua propriedade bactericida e bacteriostática, foi objeto de estudo como um potencial profilático de caries dentárias, sendo esta a principal causa de desmineralização dentária é importante perceber o mecanismo de ação e a que nível atua para o efeito desejado. Este fármaco tem a capacidade de interagir com cargas negativas, como o esmalte dentário, e ligar-se a elas (Arnaud, de Barros Neto, & Diniz, 2010).

Segundo Arnaud et al, num estudo onde no qual testaram a capacidade de remineralização do chitosan em diferentes concentrações e diferentes valores de pH, obtiveram resultados positivos em relação a capacidade de prevenção de desmineralização, mas em relação a remineralização não foi tão claro, apesar de se observar na figura 18 que a diferentes concentrações a remineralização do esmalte foi relevante, mas tal aconteceria nas condições ideais, pH 7,0, sem outros fatores que interferem com a remineralização. No entanto, podemos afirmar que possui potencial remineralizador dado que quando o esmalte é exposto a uma concentração de 5mg/ml de chitosan durante 60 segundos obtém

indícios de remineralização, já quando é exposto durante 30 segundos não se obtém qualquer resultado. Esta prevenção/remineralização pode ser explicada através da capacidade do chitosan captar iões H^+ em meio ácido, impedindo assim a desmineralização do dente (Arnaud et al., 2010).

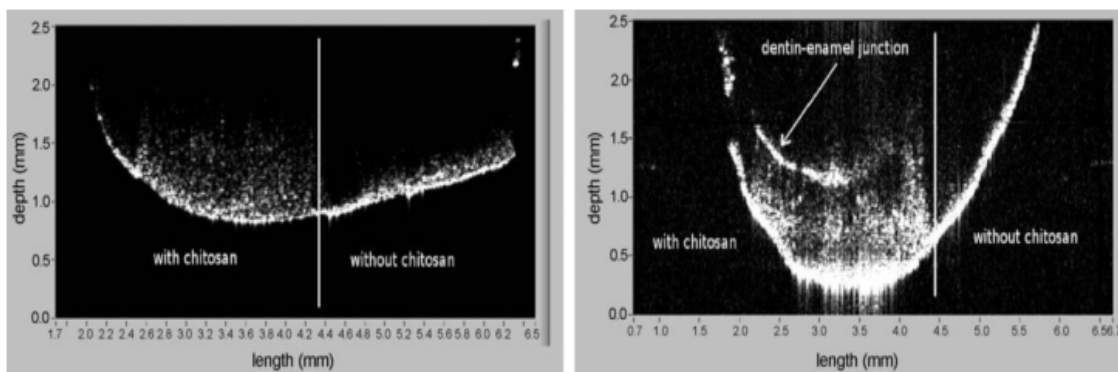


Figura 18 - Tomografia do dente em relação a duas concentrações de Chitosan, 2,5 mg/ml (à esquerda) e 5mg/ml (à direita) (Arnaud et al., 2010).

Galla Chinensis

A *Galla chinensis* é uma erva tradicional chinesa, não tóxica que apresenta propriedades anti-cariogénicas (Dong et al., 2010; X. Huang et al., 2012; Zou et al., 2008). Possui ainda atividade antibacteriana, antiviral, antifúngica e facilita a coagulação do sangue (X. Huang et al., 2012; Zou et al., 2008). Estes fatores levaram a um estudo mais aprofundado sobre esta erva e, assim, tornou-se importante investigar a sua ação a nível oral (Zou et al., 2008). Pesquisas mostraram que a *Galla chinensis* diminui a concentração de ácido no meio proveniente da fermentação de hidratos de carbono por parte da bactéria *streptococcus mutans* (serotipo c, isolado clinicamente), assim, cientistas afirmam que a *G.chinensis* constitui uma possível ajuda na área de prevenção de caries, como também na área de prevenção da desmineralização dentária (Cheng et al., 2010; Guo et al., 2012; X. Huang et al., 2012; Tian et al., 2009; Zou et al., 2008).

Goma Arábica

A Goma arábica é um polissacarídeo extraído, principalmente, dos ramos e calos da *Acacia senegal* (Ali, Ziada, & Blunden, 2009; Onishi et al., 2008). Este polissacarídeo é conhecido, nos dias de hoje, como constituinte de pastilhas elásticas, e outros produtos, uma vez que tem propriedades viscosantes (Onishi et al., 2008).

Um estudo realizado por Onishi et al em 2008, no qual se comparou a goma arábica com o fluoreto de sódio através da exposição de ambos a esmalte desmineralizado em ciclos de pH, mostrou que a goma arábica possui efeito regenerador do esmalte como se pode observar da tabela seguinte onde se obteve uma remineralização de 43.7%.

Tabela 5 - Rácio de Remineralização após ciclos de Desmineralização-Remineralização (Adaptado de Onishi et al., 2008).

Produto	Rácio de Remineralização
Goma Arábica	43.7 % +/-15.0
Fluoreto de Sódio (NaF)	47.0%+/-13.9
Esmalte desmineralizado sem produto (controlo).	-10.5%+/-14.0

Na figura 19 (microrradiografia) podemos observar o que acontece antes e depois dos ciclos de desmineralização/remineralização. Como se pode observar, antes do ciclo (antes da aplicação do produto) o esmalte possui uma área negra que corresponde à área desmineralizada. Após aplicação do produto, observa-se uma redução dessa área e assim consegue-se medir as percentagens descritas na tabela 5.

Esta remineralização corrobora a hipótese de que um aumento da concentração origina uma saturação anómala a nível do esmalte provocando a precipitação de prismas de esmalte (Onishi et al., 2008), hipótese esta que se baseia no facto da goma apresentar uma grande concentração de cálcio e deste não ser essencial à remineralização. Porém, outros cientistas discordam dessa hipótese, afirmando que tais resultados possam ser devidos não só à presença do ião cálcio mas também de iões magnésio (Mg^{2+}) e potássio (K^{+}), igualmente presentes na composição da goma (Ali et al., 2009).

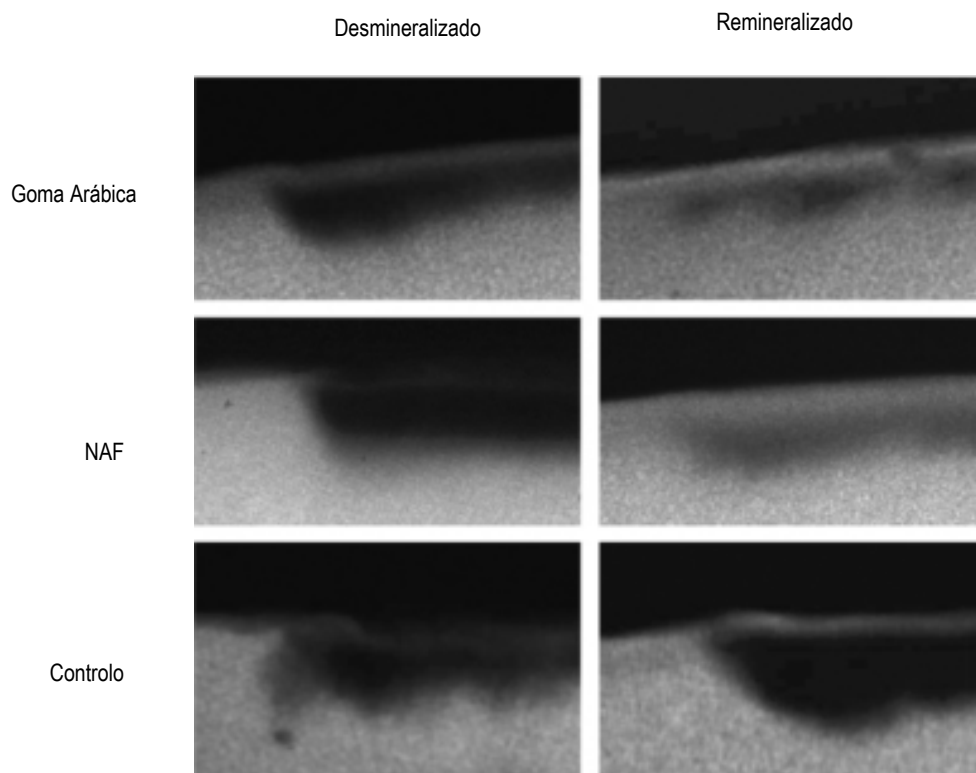


Figura 19 - Microradiografia do esmalte desmineralizado (esquerda) e após remineralização (direita) (Adaptado de Onishi et al., 2008).

Apesar de ser composta por uma diversidade de iões, apresenta ainda enzimas como glicosídeos cianogénicos, oxidases, pectinases e peroxidases que inibem crescimento de bactérias, assim não só tem papel importante na remineralização dentária como também na prevenção de caries e gengivites (Ali et al., 2009; Onishi et al., 2008).

Teobromina

A teobromina é um composto pertencente ao grupo das metilxantinas, dos quais são conhecidas outros compostos como a cafeína e a teofilina (Modelo, 2009). Esta é encontrada maioritariamente no cacau e tem uma ação diurética (Alves & Bragagnolo, 2002). A teobromina é conhecida também com o nome de 3,7-dimetilxantina e possui um efeito interessante a nível, não só diurético mas também a nível oral (Anderson, 2012). A sua capacidade de, na presença de cálcio e fosfato, formar cristais de hidroxiapatite com cerca de 2µm (cerca de 4 vezes superior aos cristais formados biologicamente, 0,5µm).

Um estudo realizado em 2013 por Amaechi et al, compararam a remineralização entre três produtos (saliva artificial, saliva artificial com teobromina e fluoreto de sódio 0,0784mol/L) de maneira a perceber o efeito que a teobromina possui na remineralização do esmalte, dado que o fluor apresenta efeito tóxico quando usado em altas concentrações como a descoloração do dente, fluorose e problemas a nível do trato gastrointestinal (B T Amaechi et al., 2013; Anderson, 2012).

Criaram três grupos de trinta dentes aos quais provocaram a desmineralização através de um gel ácido e analisaram a diferença entre as lesões artificiais antes e depois da aplicação do produto (28 dias) a nível da remineralização e da deposição de cálcio. Segundo a tabela 6 podemos observar os resultados obtidos:

Tabela 6 - Resultados de estudo da remineralização e deposição de cálcio (Adaptado de, Amaechi et al., 2013).

Tratamentos	SMH (Remineralização)			Deposição de cálcio		
	Antes da aplicação	Depois da aplicação	Valor p	Antes da aplicação	Depois da aplicação	Valor p
Saliva artificial	138±31	145±35	0.216	23±5	24±1	0.05
Teobromina	119±27	157±30	0.001	22±1	24±1	0.001
NaF	114±26	146±32	0.017	22±2	24±1	0.004

Como se pode observar, segundo o valor de p, este só apresentou ter uma significância maior ($p < 0.01$) para a teobromina no caso da remineralização e da deposição de cálcio. Por fim a saliva artificial obteve resultados positivos mas não significativos. Na figura abaixo encontram-se os gráficos que representam os valores percentis desta tabela.

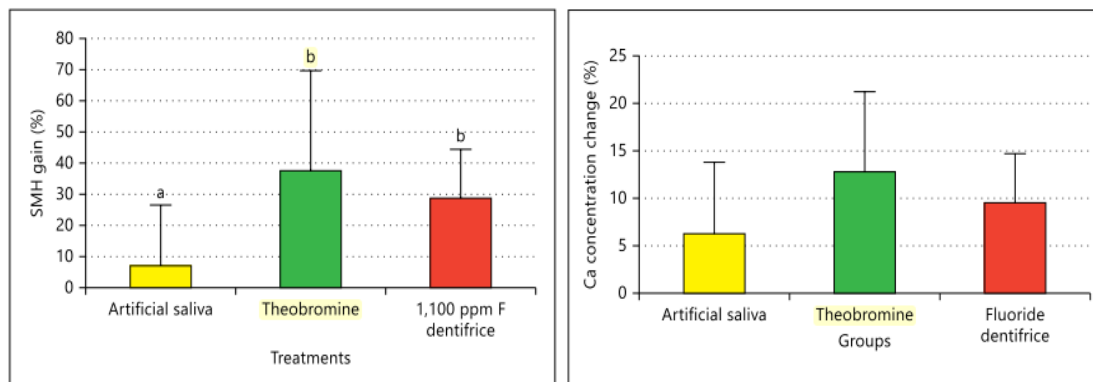


Figura 20 - Gráfico da remineralização (esquerda) e à direita gráfico da deposição de cálcio (Amaechi et al., 2013).

Pela figura podemos dizer que, segundo os resultados do estudo, a nível de remineralização a teobromina obteve cerca de $38\pm 32\%$, o fluoreto de sódio cerca de $29\pm 16\%$ e a saliva artificial cerca de $6\pm 8\%$ (o que indica ser apenas um composto de proteção e não um tratamento viável). Os autores do estudo dizem que é importante aprofundar esta molécula uma vez que ao contrário do fluor não possui efeitos adversos (B T Amaechi et al., 2013; Bennett T Amaechi, Mathews, & Mensinkai, 2014; Anderson, 2012) e apresentou melhores resultados que o fluor, não só a nível de remineralização mas também na deposição de cálcio com uma concentração 71 vezes inferior. A justificação para tais resultados envolve a característica já referida anteriormente de que a teobromina consegue formar cristais de HA com cerca $2\mu\text{m}$ e assim confere mais resistência à estrutura do esmalte uma vez que se torna mais complicado a sua dissociação do cristal e assim a fragilidade a um ataque ácido diminui.

Xilitol

O xilitol é um adoçante natural presente em diversas frutas e vegetais e obtém-se por hidrogenação catalítica da xilose (Cardoso et al., 2014; Faller, Eversole, & Pfarrer, 1996; Sano, Nakashima, Songpaisan, & Phantumvanit, 2007). A sua capacidade de suavizar a acidez permite a sua utilização em diversas aplicações (Sano et al., 2007). Autores defendem que o principal aspeto do xilitol corresponde à incapacidade, por parte das bactérias da flora oral de fermentar o xilitol e assim não se desenvolvem e são eliminadas (Burt, 2006; Faller et al., 1996; Sano et al., 2007). No entanto em 2008 um estudo não verificou esta teoria acerca do xilitol (Söderling, Ekman, & Taipale, 2008), gerando alguma controvérsia. Desde 1963 a FDA “*Food and drug administration*” aprovou o seu uso em produtos da dieta, mas uma vez que é mais dispendioso que os seus “análogos” (sucrose e sorbitol) e não ser passível de ser cozinhado dado a ser destruído pelo calor (Faller, Eversole, & Pfarrer, 1996) não é utilizado em produtos de consumo diário. Atualmente o xilitol é adicionado em pastilhas, como substituinte do açúcar e, uma vez adicionado a pastilhas, possui propriedades higroscópicas, estimulando o fluxo salivar originando um aumento da proteção dentária contra desgastes acídicos (Cardoso et al., 2014).

O xilitol representa um importante objeto de estudo dado a sua capacidade remineralizadora através do seu comportamento como transportador de cálcio, mantendo assim

o nível mineral necessário para ocorrer a remineralização (Burt, 2006; Rochel et al., 2011; Souza et al., 2010) e dado à sua presença em pastilhas é importante estudar o seu potencial a nível dentário, não só como proteção mas também como agente de remineralização.

Foram realizados diversos estudos que testaram o seu potencial de proteção contra a erosão dentária através da caries mas só em 2014 foi testado o efeito do xilitol nos minerais. Esse estudo *in vitro* foi realizado por Cardoso et al e analisou o efeito de diversos vernizes contendo xilitol versus verniz com fluor em lesões artificiais no esmalte através de testes de medição da diferença de profundidade da lesão e percentagem de mineral presente após tratamento com as diversas amostras. Para tal recolheram 130 dentes de bovino desinfetados com 2% formaldeído durante 30 dias a pH 7.0 a temperatura ambiente. Desses 130 dentes recolheram 105 dentes com rigidez padrão com cerca de, KHN 346 ± 27 . Destes 105 dentes formaram 7 grupos de 15 e estes 7 amostras foram colocadas em emersão de 30 ml de ácido láctico (3mM CaCl_2 ; 2H₂O, 3mM KH_2PO_4 , 6 μM tetraetil metil difosfanato) a pH 5.0 durante 6 dias para provocar a sua desmineralização. Após a desmineralização cada amostra foi exposta a vários vernizes: 10% xilitol; 20% xilitol; 10% xilitol com fluor (5% NaF); 20% xilitol com fluor (5% NaF); Duofluorid™ (6% NaF, 2,7% F e 6% CaF_2); Duraphat (5% NaF, controlo positivo) e por ultimo um grupo placebo (controlo negativo). Os vernizes foram aplicados durante 6 horas e as amostras foram sujeitas a ciclos pH (2 horas de desmineralização e 22 horas de remineralização durante 8 dias). Após tratamento analisou-se a rigidez, a diferença de profundidade da lesão e a percentagem mineral.

Tabela 7 - Resultados da rigidez da superfície antes e após tratamento das amostras (são valores médios do n=15) (adaptado de, Cardoso et al., 2014).

Amostras	Rigidez padrão KHN	Rigidez após lesão KHN	Rigidez após tratamento KHN	Diferença de rigidez (%)
Duraphat™ (controlo +)	344.9 \pm 23.8	61.5 \pm 28.5	93.6 \pm 28.4	12.7 \pm 8.5
Duofluorid XII™	339.5 \pm 19.1	61.6 \pm 33.6	83.9 \pm 29.3	7.7 \pm 5.9
10% Xilitol	347.6 \pm 30.0	68.4 \pm 45.3	85.2 \pm 30.8	5.1 \pm 9.0
20% Xilitol	347.0 \pm 27.5	60.3 \pm 31.4	75.4 \pm 31.3	5.2 \pm 4.3
10% Xilitol +F	351.6 \pm 34.2	65.1 \pm 29.2	94.7 \pm 22.2	10.0 \pm 8.4
20% Xilitol +F	322.0 \pm 31.2	64.2 \pm 30.2	84.6 \pm 27.1	8.1 \pm 6.6
Placebo (controlo -)	353.4 \pm 28.4	65.0 \pm 34.4	75.8 \pm 38.6	3.9 \pm 3.9

Na presente tabela podemos observar que, tendo como objetivo obter resultados o mais próximo possível do controlo positivo (Duraphat™). Os vernizes de 10% xilitol mais fluor e o 20% xilitol mais fluor têm a capacidade de induzir significativamente a recuperação da rigidez da superfície comparando com os outros grupos ($p < 0,05$).

Tabela 8 - Resultados da diferença de profundidade (A) das lesões (profundidade lesão final – profundidade lesão inicial) e do ganho de mineral (B) (mineral final – mineral inicial) (adaptado Cardoso et al., 2014).

Amostras	A	B
Duraphat™	18.7±16.8	633.6±485.3
Duofluorid XII™	18.6±11.3	772.2±333.3
10% Xilitol	6.3±14.1	65.6±385.7
20% Xilitol	29.9±17.6	966.7±716.3
10% Xilitol + F	6.8±3.5	320.0±239.2
20% Xilitol + F	10.0±14.7	380.9±386.6
Placebo	-2.8±10.9	-258.0±337.8

Como se pode visualizar na tabela 8 o Duraphat™, o Duofluorid XII™, e a amostra de 20% Xilitol diminuíram significativamente a profundidade da lesão e aumentaram a integração mineral. Na seguinte figura podemos visualizar o comportamento das diversas amostras em diferentes profundidades de lesão, ajudando a perceber mais um pouco o potencial de remineralização de cada produto em estudado.

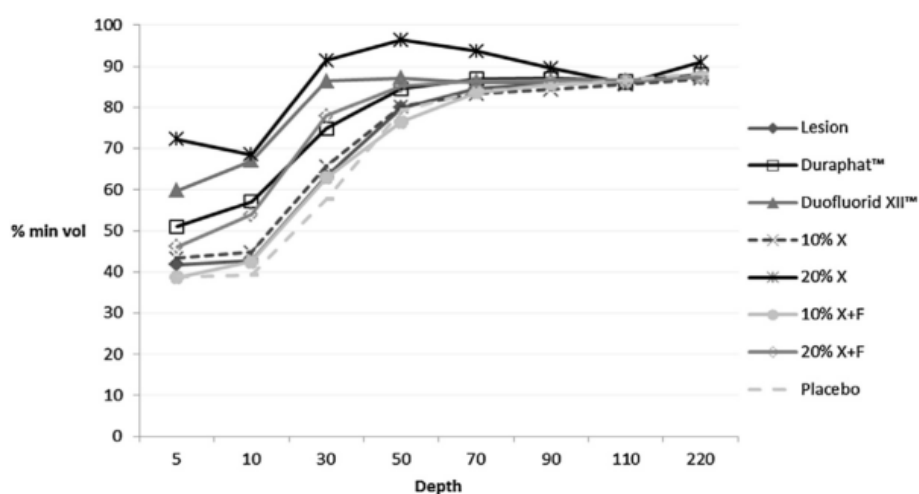


Figura 21 - Percentagem de mineral versus profundidade da lesão (Cardoso et al., 2014).

Concluindo, o Duraphat™ tem capacidade de regenerar o esmalte lesado tal como a amostra de 20% xilitol com fluor. Por outro lado a amostra com 20% xilitol sem fluor foi capaz de melhorar a remineralização do esmalte erodido, apresentando na saliva uma concentração maior de xilitol do que a de 10% (durante 8 horas). Os autores do estudo referem que é necessário mais estudos *in vivo ou in situ* dado que o xilitol (20%) tem um potencial remineralizador interessante, dado à sua capacidade de formar complexos na superfície do esmalte com cálcio e fosfato impedindo a sua desmineralização e induzindo a remineralização. Afirmam também que o xilitol não é tóxico e a sua *clearance* na cavidade oral é rápida. Por outro lado os vernizes são uma estratégia usada para a aplicação de fluor e recentemente desenvolveram uns com xilitol que se mostram uteis contra a erosão dentária (Cardoso et al., 2014), sendo vernizes, a sua aplicação não depende de muita preocupação diária dado que é de aplicação única, o que favorece o efeito desejado. Para terminar os autores indicam que são necessários cerca de 6-10 g/dia para prevenção, o que equivale a cerca 5 pastilhas (2g/cada) contendo xilitol e que a combinação entre o xilitol e o fluor pode ser otimizada reduzindo a concentração de fluor, aumentando assim o efeito preventivo e de remineralização desejado (Cardoso et al., 2014).

2.5 Flúor

O estudo de fármacos para prevenir a desmineralização e para potenciar a remineralização dos cristais de hidroxiapatite tem sido uma das preocupações dos dentistas, dado que lesões profundas do esmalte são muito difíceis de tratar sem invasão. Desde os anos 80 que se estabeleceu que o fluor ajuda a controlar a lesão provocada pela carie (Li, Wang, Joiner, & Chang, 2014). A presença de fluor como aditivo em diversos produtos nos dias de hoje, veio diminuir a prevalência de caries dentaria uma vez que este forma um composto quando interage com a hidroxiapatite, formando a fluorapatite, sendo este mais resistente aos ácidos (Li et al., 2014; Rodrigues, Delbem, Pedrini, & Cavassan, 2010). A prevalência de caries diminui bastante nos anos 70 e 80 com a introdução de fluor nas águas da rede (Cochrane, Cai, Huq, Burrow, & Reynolds, 2010). Este composto é o agente mais importante na prevenção de caries mas o seu consumo constante de maneira incorreta pode provocar fluorose (manchas esbranquiçadas nos dentes), principalmente em crianças até aos 12 anos (Li et al., 2014; Rodrigues et al., 2010). Como estratégia para

diminuir o risco de fluorose reduziu-se a concentração de fluor (para 500 ppm em pastas para crianças) presente em pastas de dentes, mas no entanto esta redução mostrou não ser tão efetivo como os 1100 ppm. Como alternativa, estudos demonstraram que a adição de fosfatos orgânicos e inorgânicos a baixas concentrações de fluor conseguem aumentar a efetividade do mesmo (Zaze et al., 2014). Um estudo in vivo mostrou que bochechar a boca com 150mM de lactato de cálcio antes de bochechar com 226 ppm de fluor aumentou a concentração de fluor na saliva e na placa durante uma hora (Ferda Dogan, Arzu Civelek, 2004).

Dados estes indícios, Zaze et al realizaram um estudo este ano para investigar a efetividade do fluor quando adicionado a glicerofosfato de cálcio (CaGP), tendo como hipótese de estudo: “Será que o tratamento com CaGP 0,25% com 500 ppm de fluor tem o mesmo efeito quando comparado com uma pasta dentífrica com 1100 ppm?”. Para tal recolheram 200 incisivos de bovino e armazenaram-nos em 2% de formaldeído a pH 7.0 durante 1 mês. Em seguida selecionaram os dentes com uma rigidez da superfície de 330.0-370.0 KHN e formaram 5 grupos de 40 dentes, esses 5 grupos foram emersos numa solução de 1.3 mM/L de cálcio; 0.78 mM/L de fosfato; 0,05 mol/L acetato (tampão para pH 5.0); 0.03-0.04 µg/ml (2ml/mm²) de fluor durante 16 horas a 37° C, simulando a erosão que acontece a nível oral com todo o ambiente mineral envolvido. Após a desmineralização efetuada, selecionaram os dentes que apresentavam rigidez entre 59.0 e 92.0 KHN e trataram os diferentes grupos com: (1) Placebo (sem tratamento); (2) 500 ppm de NaF; (3) 500 ppm de fluor mais 0.25% CaGP, sendo fonte de fluor o NaF; (4) 500 ppm de fluor mais 0.25% de CaGP, sendo fonte de fluor o MFP (monofluorfosfato); (5) 1100 ppm de fluor (controlo positivo) durante 3 dias.

Dado a aplicação dos tratamentos os autores analisaram a componente mineral e a percentagem de aumento de rigidez (presentes na tabela 9). Com estes resultados, os autores indicam que a análise da rigidez do tratamento com a junção de fluor e glicerofosfato de cálcio a 0.25% mostrou um aumento significativo de remineralização quando comparado com o grupo placebo. Relativamente com o ganho mineral, podemos observar que todos os grupos (à exceção do grupo placebo) obtiveram ganhos, principalmente os grupos associados com CaGP. Os autores indicam que o NaF é um melhor reservatório de fluor que o MFP uma vez que apresentou maior concentração de fluor (0.707 µg/mm³) após o tratamento.

Tabela 9 - Resultados da rigidez e da composição mineral após tratamento dos diversos grupos Adaptado de, Zaze et al., 2014).

Análise	Placebo	500 ppm	1100 ppm	500 NaF CaGP	500 MFP CaGP
Fluor total (ppm F)	8.8	520.3	1069.1	545.6	546.4
Fluor ionizável (ppm F)	8.7	518.1	1062.2	513.2	494.7
Fluor iônico (ppm F)	7.4	519.7	1033.6	500.4	141.7
Porcentagem de aumento de rigidez (%)	18.2	28.9	39.7	42.8	36.4
Fluor ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	0.360	0.521	0.859	0.707	0.504
Cálcio ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	577.3	661.1	803.6	753.3	730.0
Fosfato ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$)	70.9	91.1	137.2	134.5	106.0

Concluindo, a adição de CaGP a 500 ppm de fluor sob a forma de NaF provoca um aumento da concentração mineral do fosfato, cálcio e fluor no meio o que favorece a remineralização do esmalte dentário que se pode observar nos resultados obtidos, uma vez que se obteve um aumento de rigidez de 42.8 % (0.25% CaGP NaF) e 36.4% (0.25% CaGP MFP). Podemos assim afirmar que a hipótese de estudo foi obtida. Pastas de dentes com baixa concentração de fluor (500 ppm) com 0.25% CaGP têm potencial de remineralização semelhante a uma concentração de fluor de 1100 ppm, apesar de ser necessário estudos clínicos para confirmar esta informação, uma vez que existe uma preocupação com a estabilidade do produto (Zaze et al., 2014). Esta complementaridade deve ser uma aposta futura na área dos dentífricos para diminuir o risco de fluorose em crianças.

Este potencial de remineralização do fluor deve-se à formação de um cristal menos solúvel que a hidroxiapatite, a fluorapatite (FA) ou hidroxiapatite fluorada (FHA). Este forma-se quando o fluor entra em contato direto com a hidroxiapatite e o fluor substitui os grupos hidroxilo. (Li et al., 2014; Vieira et al., 2005; Zaze et al., 2014). Numa revisão bibliográfica realizada este ano Li et al dizem que a concentração de fluor presente no esmalte não é suficiente para proteger o dente, sendo necessário suplementos extra de fluor. Afirmam que a ação máxima de proteção ocorre quando 50% dos grupos hidroxilo são substituídos por fluor. O fluor também fica retido na placa bacteriana juntamente com o cálcio formando CaF_2 que funciona com reservatório de fluor e cálcio para proteção e remineralização do esmalte. Em pH baixo o fluor liberta-se e protege o dente e em pH perto do neutro, o fluor livre leva a formação mineral.

O fluor, como já é conhecido, tem várias aplicações e como tal estudar compostos com fluor é uma importante matéria de estudo. Atualmente já existem investigadores a estudar compostos como o tetrafluor com titânio, monofluorofosfatado com sódio, fluor

com amónia, entre outros, visto ser uma mais-valia para a prevenção de lesões a nível dentário (Li et al., 2014).

2.6 Produtos comercializados

Os produtos existentes neste âmbito são muito escassos. A falta de ensaios clínicos *in vivo* em indivíduos constitui um entrave no desenvolvimento desta gama de produtos. Atualmente, em Portugal, existe unicamente o verniz *Colgate duraphatTM* (figura 22), a pasta de dentes *Sensodyne Repair & Protect* e alguns produtos com CPP-ACP. O primeiro é um verniz de fluoreto de sódio a 5% para uso profissional, de aplicação rápida e fácil, indicado para a prevenção e tratamento de lesões incipientes de cárie e outras de desmineralização do esmalte (Colgate, 2014). Atua formando um reservatório de fluoreto de cálcio na superfície do esmalte, que durante a atividade cariogénica (formação da caries) ocorre a libertação de iões de fluor favorecendo a remineralização devido à formação de fluorapatite (mecanismo de ação descrito no capítulo acima) que cobre a lesão. O restante fluoreto de cálcio atua como um reservatório controlado pelo pH. Uma simples aplicação pode oferecer mais de 77% de fluor no esmalte e até 73% de redução da caries.



Figura 22 - Verniz DuraphatTM de fluoreto de sódio 5% (Colgate, 2014)

A *Sensodyne Repair & Protect* (figura 23) possui um sistema inovador Novamin® (fosfosilicato que sódio e cálcio) corresponde a um vidro bioativo (também já descrito o

seu mecanismo de ação). Esta pasta tem a capacidade de localizar a zona lesada e transportar os iões até à mesma. Uma vez no local lesado estes precipitam na forma de hidroxiapatite (Sensodyne, 2014).



Figura 23 - Sensodyne Repair & Protect (Sensodyne, 2014).

Estão disponíveis ainda no mercado colutórios com 2% CPP-ACP bem como com 2% CPP-ACP com 450ppm de fluor, como também existe pastilhas com este fármaco (*trident xtra care*). Os restantes produtos existentes que possuem os diversos compostos descritos nas várias secções ainda não são utilizados exclusivamente para a remineralização mas sim maioritariamente para a prevenção de caries e para a sensibilidade dentária (xilitol e goma arábica em pastilhas; fluor em pastas de dentes)

3. CONCLUSÃO

Como se pode observar na figura seguinte, o ciclo de remineralização possui 3 condicionantes: o pH, a saliva e a placa bacteriana. Quando o pH está baixo (ácido) proporciona a desmineralização uma vez que dissocia a molécula de HA; quando está elevado acontece o inverso. A placa bacteriana é fundamental ser considerada neste processo, uma vez que para além de ser responsável pela erosão dentária, também funciona como um reservatório de minerais essenciais à remineralização, como o fluor e o cálcio. A saliva apresenta diversos papéis a este nível, os quais visam assegurar a proteção e a remineralização do esmalte dentário através do seu efeito tampão e de reservatório de fosfato e cálcio.

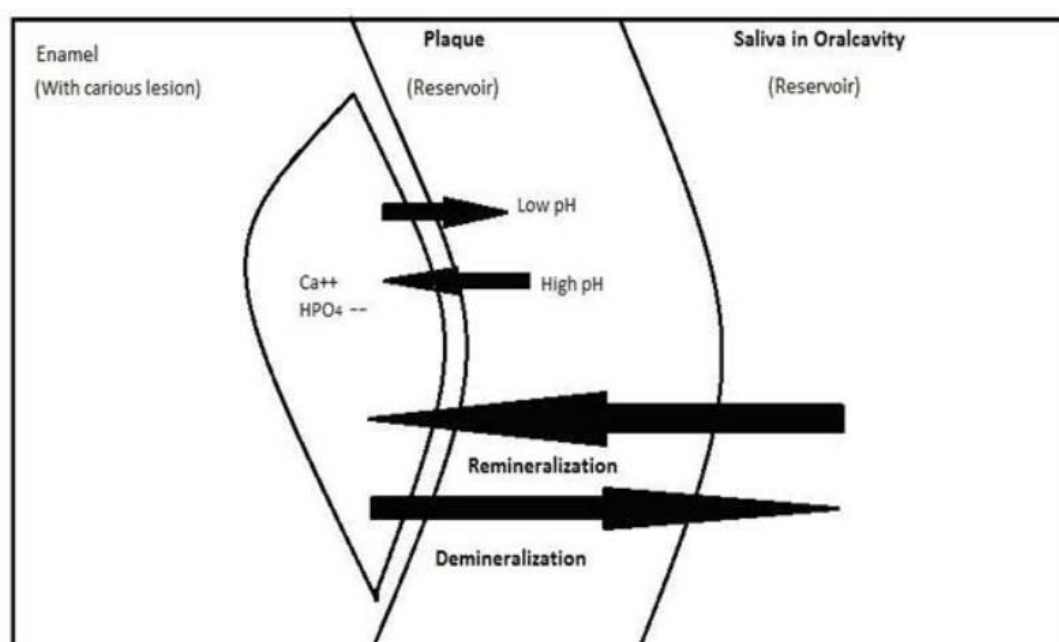


Figura 24 – Ciclo de desmineralização e remineralização (Madan & Madan, 2011).

Ao longo da revisão bibliográfica foram abordados diversos fármacos com diferentes mecanismos de ação a nível da regeneração do esmalte. Os mais importantes, atualmente utilizados em produtos comerciais mas não necessariamente para o propósito deste trabalho, são: o fluor, o xilitol, a goma arábica, a CPP-ACP e o sistema novamin-biovidro (fosfossilicato de sódio e cálcio). Cada um deles possui diferentes processos de proteção e remineralização do esmalte, por exemplo, o fluor quando interage diretamente com o

esmalte forma fluorapatite, cristal mais resistente que a hidroxiapatite. A goma arábica, o xilitol, a CPP-ACP e a nano-HA têm em comum funcionar como transportadores de cálcio, sódio, fosfato e outros minerais fundamentais na remineralização e proteção do dente, no entanto a CPP-ACP possui ainda outras funções já explicadas anteriormente. Por outro lado temos também aqueles fármacos (ainda pouco estudados) onde um só tem efeito unicamente antibacteriano (*G.chinensis*) e o outro possui capacidade de captar iões H^+ em meio ácido (chitosan).

Por fim, existe um fármaco que aparenta superar as propriedades regeneradoras do fluor: teobromina. De facto, a teobromina, tem a capacidade de induzir a produção de cristais de hidroxiapatite com cerca de 2 μm (4 vezes maior que o tamanho do cristal normal), não é tóxica e é um composto natural.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo do mecanismo de ação e do respetivo fármaco.

Tabela 10 – Fármacos e suas principais propriedades importantes para a remineralização

Fármacos	Propriedades	Origem
Vidro bioativo (fosfossilicato de sódio e cálcio)	Transportar cálcio e fosfato até a superfície lesada	Sintética
Nano-Hidroxiapatite	Elevada concentração de cálcio Reservatório de fosfato de cálcio	Sintética
CPP-ACP (fosfopéptido de caseína unido a fosfato de cálcio amorfo)	Saturação de cálcio e fosfato Tamponar placa bacteriana Manutenção da concentração iónica no meio.	Natural/Sintética
Chitosan	Captar iões H^+ em meio ácido	Natural
Galla chinensis	Antibacterianas	Natural
Xilitol	Forma complexos com cálcio e fosfato na superfície do dente inibindo a desmineralização	Natural
Goma arábica	Possui magnésio e potássio Antibacteriana Elevada concentração de cálcio	Natural
Fluor	Formação cristais de fluorapatite (mais resistente)	Natural
Teobromina	Produção cristais HA com 2 μm	Natural

Como é demonstrado ao longo deste trabalho, os estudos mais recentes afirmam que, apesar da necessidade de mais estudos clínicos, os resultados obtidos indicam que o uso, ou a possível utilização, destes fármacos é vantajoso para tratar pequenas lesões do esmalte de um modo não invasiva. Assim a importância do estudo, não só do dente mas de todo o ambiente que o envolve torna-se fundamental, dado que uma pequena alteração pode levar a problemas na saúde oral.

4. BIBLIOGRAFIA

- Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: a review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 47(1), 1–8. doi:10.1016/j.fct.2008.07.001
- Alves, A., & Bragagnolo, N. (2002). Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. *Brazilian Journal of Pharmaceutical ...*, 38.
- Amaechi, B. T., Mathews, S. M., & Mensinkai, P. K. (2014). Effect of theobromine-containing toothpaste on dentin tubule occlusion in situ. *Clinical Oral Investigations*. doi:10.1007/s00784-014-1226-1
- Amaechi, B. T., Porteous, N., Ramalingam, K., Mensinkai, P. K., Ccahuana Vasquez, R. a, Sadeghpour, a, & Nakamoto, T. (2013). Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Research*, 47(5), 399–405. doi:10.1159/000348589
- Anderson, K. (2012). In Sight—Theobromine for Tooth Decay Prevention. *Cosmetics and Toiletries*, (April), 1–2.
- Arnaud, T. M. S., de Barros Neto, B., & Diniz, F. B. (2010). Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: an in vitro evaluation. *Journal of Dentistry*, 38(11), 848–52. doi:10.1016/j.jdent.2010.06.004
- Baratieri, L. N., Junior, M. S., Andrada, M. A. C., Vieira, L. C. C., Ritter, A. V., Cardoso, A. C. (2003). *Odontologia restauradora – fundamentos e possibilidades 1ª edição*. São Paulo, Brasil: Quintessence Books
- Benjakul, P., & Chuenarrom, C. (2011). Association of dental enamel loss with the pH and titratable acidity of beverages. *Journal of Dental Sciences*, 6(3), 129–133. doi:10.1016/j.jds.2011.05.001
- Brezeanu, L. C., & Beresescu, G. (2011). Influence of dental materials on the tooth structure: Finite elements method study, 137–141.

- Burt, B. A. (2006). chewing gum in caries control. *Journal of the American Dental Association*, 137, 190–196.
- Cai, F., Shen, P., Walker, G. D., Reynolds, C., Yuan, Y., & Reynolds, E. C. (2009). Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *Journal of Dentistry*, 37(10), 763–8. doi:10.1016/j.jdent.2009.06.003
- Cardoso, C. a B., de Castilho, a R. F., Salomão, P. M. a, E N Costa, Magalhães, a C., & Buzalaf, M. a R. (2014). Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 4–10. doi:10.1016/j.jdent.2014.08.009
- Cheng, L., Li, J., Hao, Y., & Zhou, X. (2010). Effect of compounds of *Galla chinensis* on remineralization of enamel surface in vitro. *Archives of Oral Biology*, 55(6), 435–40. doi:10.1016/j.archoralbio.2010.03.014
- Cochrane, N. J., Cai, F., Huq, N. L., Burrow, M. F., & Reynolds, E. C. (2010). New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *Journal of Dental Research*, 89(11), 1187–97. doi:10.1177/0022034510376046
- Dong, Z., Chang, J., Zhou, Y., & Lin, K. (2010). In vitro remineralization of human dental enamel by bioactive glasses. *Journal of Materials Science*, 46(6), 1591–1596. doi:10.1007/s10853-010-4968-4
- Duraphat™, consultado em 10 de setembro de 2014, disponível em <http://www.colgate-teprofissional.com.br/produtos/Colgate-Duraphat/detalhes>
- Faller, R. V., Eversole, S. L., & Pfarrer, A. M. (1996). Effect of Xylitol on Enamel Fluoride Uptake and Remineralization, 3.
- Farooq, I., Moheet, I. a., Imran, Z., & Farooq, U. (2013). A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex. *King Saud University Journal of Dental Sciences*, 4(2), 47–51. doi:10.1016/j.ksujds.2013.03.004
- FitzGerald, R. J. (1998). Potential Uses of Caseinophosphopeptides. *International Dairy Journal*, 8(5-6), 451–457. doi:10.1016/S0958-6946(98)00068-5

- Grewal, N., Kudupudi, V., & Grewal, S. (2013). Surface remineralization potential of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel eroded by coca-drinks: An in-situ model study. *Contemp Clin Dent*, 4(3), 331-337. Doi:10.4103/0976-237X.118385
- Guo, B., Que, K.-H., Jing Yang, Wang, B., Liang, Q.-Q., & Xie, H.-H. (2012). Effect of *Galla chinensis* on the remineralization of two bovine root lesions morphous in vitro. *International Journal of Oral Science*, 4(3), 152–6. doi:10.1038/ijos.2012.45
- Hannig, M., & Hannig, C. (2010). Nanomaterials in preventive dentistry. *Nature Nanotechnology*, 5(8), 565–9. doi:10.1038/nnano.2010.83
- Huang, S. B., Gao, S. S., & Yu, H. Y. (2009). Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomedical Materials (Bristol, England)*, 4(3), 034104. doi:10.1088/1748-6041/4/3/034104
- Huang, S., Gao, S., Cheng, L., & Yu, H. (2011). Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Research*, 45(5), 460–8. doi:10.1159/000331207
- Huang, X., Cheng, L., Exterkate, R. a M., Liu, M., Zhou, X., Li, J., & ten Cate, J. M. (2012). Effect of pH on *Galla chinensis* extract's stability and anti-caries properties in vitro. *Archives of Oral Biology*, 57(8), 1093–9. doi:10.1016/j.archoral-bio.2012.04.007
- Järvinen, V. K., Rytömaa, I. I., & Heinonen, O. P. (1991). Risk factors in dental erosion. *Journal of Dental Research*, 70(6), 942–7. Retirado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2045572>
- Kaplan, M. D., Baum, B. J., Investigations, C., & Branch, P. C. (1993). Dysphagia, 229, 225–229.
- Kitasako, Y., Tanaka, M., Sadr, A., Hamba, H., Ikeda, M., & Tagami, J. (2011). Effects of a chewing gum containing phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) and fluoride on remineralization and crystallization of enamel subsurface lesions in situ. *Journal of Dentistry*, 39(11), 771–9. doi:10.1016/j.jdent.2011.08.009.
- Levine, M. (2011). Topics in Dental Biochemistry. doi:10.1007/978-3-540-88116-2

- Li, X., Wang, J., Joiner, A., & Chang, J. (2014). The remineralisation of enamel: a review of the literature. *Journal of Dentistry*, 42 Suppl 1, S12–20. doi:10.1016/S0300-5712(14)50003-6
- Madan, N. (2011). Tooth remineralization using Bio-active glass a novel approach. *Baba Farid University*, 2(2). Retirado de <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:bfudj&volume=2&issue=2&article=015>
- Mendoza-barrera, C. (2005). Estudio de interacciones de Estaterina con superficies de hidroxiapatita : Análisis de superficie, 18(4), 31–34.
- Modelo, G. (2009). Fichas sustancias indeseables alimentación animal.
- Nongonierma, a B., & Fitzgerald, R. J. (2012). Biofunctional properties of caseinophosphopeptides in the oral cavity. *Caries Research*, 46(3), 234–67. doi:10.1159/000338381
- Oliveira, G. M. S., Ritter, A. V, Heymann, H. O., Swift, E., Donovan, T., Brock, G., & Wright, T. (2014). Remineralization effect of CPP-ACP and fluoride for white spot lesions in vitro. *Journal of Dentistry*, 1–11. doi:10.1016/j.jdent.2014.09.004
- Onishi, T., Umemura, S., Yanagawa, M., Matsumura, M., Sasaki, Y., Ogasawara, T., & Ooshima, T. (2008). Remineralization effects of gum arabic on caries-like enamel lesions. *Archives of Oral Biology*, 53(3), 257–60. doi:10.1016/j.archoral-bio.2007.10.004
- Pessoa, M., Mestre, G., Paula, A., & Gebert, O. (2002). Controle químico e mecânico de placa bacteriana, 45–57.
- Pinto, G., Caira, S., & Cuollo, M. (2012). Bioactive Casein Phosphopeptides in Dairy Products as Nutraceuticals for Functional Foods. *Milk Protein*, 3–44. Retirado de <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/38840.pdf>
- Robinson, C., Shore, R. C., Brookes, S. J., Strafford, S., Wood, S. R., & Kirkham, J. (2000). The Chemistry of Enamel Caries. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11(4), 481–495. doi:10.1177/10454411000110040601
- Rochel, I. D., Souza, J. G., Silva, T. C., Pereira, A. F. F., Rios, D., Buzalaf, M. a. R., & Magalhães, A. C. (2011). Effect of experimental xylitol and fluoride-containing dentifrices on enamel erosion with or without abrasion in vitro. *Journal of Oral Science*, 53(2), 163–168. doi:10.2334/josnusd.53.163

- Roveri, N., Battistella, E., Bianchi, C. L., Foltran, I., Foresti, E., Iafisco, M., ... Rimondini, L. (2009). Surface Enamel Remineralization: Biomimetic Apatite Nanocrystals and Fluoride Ions Different Effects. *Journal of Nanomaterials*, 2009, 1–9. doi:10.1155/2009/746383
- Sano, H., Nakashima, S., Songpaisan, Y., & Phantumvanit, P. (2007). Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel in vitro. *Journal of Oral Science*, 49(1), 67–73. doi:10.2334/josnugd.49.67
- Sensodyne Repair & Protect, consultado em 10 de setembro de 2014, disponível em <http://www.sensodyne.pt/produtos/gama-sensodyne/sensodyne-repair-protect.aspx>
- Söderling, E. M., Ekman, T. C., & Taipale, T. J. (2008). Growth inhibition of *Streptococcus mutans* with low xylitol concentrations. *Current Microbiology*, 56(4), 382–5. doi:10.1007/s00284-007-9076-6
- Souza, J. G., Rochel, I. D., Pereira, A. F. F., Silva, T. C., Rios, D., Machado, M. A. a. M., ... Magalhães, A. C. (2010). Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro. *Journal of Oral Science*, 52(4), 553–559. doi:10.2334/josnugd.52.553
- Tian, F., Li, B., Ji, B., Yang, J., Zhang, G., Chen, Y., & Luo, Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 113(1), 173–179. doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.062
- Tschoppe, P., Zandim, D. L., Martus, P., & Kielbassa, A. M. (2011). Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry*, 39(6), 430–7. doi:10.1016/j.jdent.2011.03.008
- Von Fraunhofer, J. A., & Rogers, M. M. (2006). Dissolution of dental enamel in soft drinks. *General Dentistry*, 52(4), 308–12. Retirado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15366295>
- Wang, X., & Lussi, A. (2012). Functional foods/ingredients on dental erosion. *European Journal of Nutrition*, 51 Suppl 2, S39–48. doi:10.1007/s00394-012-0326-4
- Zaze, a C. S. F., Dias, a P., Amaral, J. G., Miyasaki, M. L., Sassaki, K. T., & Delbem, a C. B. (2014). In situ evaluation of low-fluoride toothpastes associated to calcium

- glycerophosphate on enamel remineralization. *Journal of Dentistry*, 1–5. doi:10.1016/j.jdent.2014.09.001
- Zero, D. T., & Lussi, A. (2005). Erosion--chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *International Dental Journal*, 55(4 Suppl 1), 285–90. Retirado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16167607>
- Zheng, L., Zheng, J., Zhang, Y. F., Qian, L. M., & Zhou, Z. R. (2013). Effect of CPP-ACP on the remineralization of acid-eroded human tooth enamel: nanomechanical properties and microtribological behaviour study. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 46(40), 404006. doi:10.1088/0022-3727/46/40/404006
- Zou, L., Zhang, L., Li, J., Hao, Y., Cheng, L., Li, W., & Zhou, X. (2008). Effect of *Galla chinensis* extract and chemical fractions on demineralization of bovine enamel in vitro. *Journal of Dentistry*, 36(12), 999–1004. doi:10.1016/j.jdent.2008.08.008